

**Die spezifische Wirkung von
körpereigenen Substanzen auf den
Stoffwechsel von Gewebekulturen**

Arnulf Geipel

1961

**Die spezifische Wirkung von
körpereigenen Substanzen auf den
Stoffwechsel von Gewebekulturen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Arnulf Geipel
aus Hof/Bayern

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Privatdozent Dr. H. WRBA
Korreferent:	Professor Dr. W. BÜNGELER
Dekan:	Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 10.10.1961



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	7
MATERIAL UND METHODE	16
A) Die Deckglasmethode	16
B) Die Uhrglasschälchenzüchtung	17
C) Die Messung der Aktivität	18
VERSUCHSERGEBNISSE	19
1) Die Aufnahme radioaktiven Phosphats durch Organkulturen	19
a) Die Aufnahme radioaktiven Phosphats durch Fibroblasten in der Deckglaskultur	19
b) Die Aufnahme radioaktiven Phosphats durch Milzkulturen	20
2) Die Wirkung verschiedener Placentapraeparate auf die Phosphataufnahme von Fibroblastenkulturen in der Deckglaskultur	20
a) Die Wirkung von pulverisiertem Placentaextrakt auf die Phosphat- aufnahme von Herzfibroblastenkulturen	20
b) Der Einfluss frischen Placentaextraktes auf die Phosphataufnahme von Hühnerbeinfibroblasten	21
c) Die Beeinflussung des Zellstoffwechsels durch frisches Placentaho- mogenisat bei verschieden langen Einwirkungszeiten	22
d) Die Beeinflussung der Phosphataufnahme von Hühnerbeinfibroblasten durch Inplacen	23
3) Die Wirkung verschiedener Placentapraeparate auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenorgane in der Uhrglasmethode	23
a) Die Wirkung von Inplacen auf die Phosphataufnahme embryonaler Lebern und Nieren von Ratten	24
b) Die Wirkung von Regeneresen und Siccacell auf die Phosphataufnahme embryonaler Lebern und Nieren	24
c) Die Wirkung eines österreichischen, pulverisierten Placentapraepa- rates auf die Phosphataufnahme embryonaler Leberzellen	25
d) Die Wirkung frischen Extraktes von Humanplacenten auf die Phos- phataufnahme embryonaler Lebern und Nieren	26
e) Die Wirkung gekochten, nativen Placentaextraktes auf die Phosphat- aufnahme embryonaler Lebern und Nieren	27
f) Die Wirkung mazerierten Extraktes von Humanplacenten auf die Phosphataufnahme embryonaler Organe	28
g) Die Wirkung von frischem Humanplacentenextrakt verschiedener Konzentration auf die Phosphataufnahme embryonaler Lebern	29

4) Die Wirkung von Nebennierenextrakt auf die Phosphataufnahme von Nebennieren erwachsener Ratten	30
5) Die Wirkung von Nabelschnurserum unter verschiedenen Bedingungen auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenorgane in der Uhrglas- methode	31
a) Die Wirkung nativen Nabelschnurserums von Humanplacenten auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenlebern in der Uhrglas- methode	32
b) Die Wirkung filtrierten Nabelschnurserums in nativem und gekoch- tem Zustand auf die Phosphataufnahme von embryonalen Leber- zellen in der Uhrglasmethode	33
c) Die Wirkung von mazeriertem Nabelschnurserum auf die Phosphat- aufnahme embryonaler Rattenlebern und Nieren in der Uhrglas- methode	34
d) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenherzen in der Uhrglasmethode	35
6) Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme von Tumoren und embryonaler Organe in der Uhrglasmethode	36
a) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme des Walker-Carcinoms und des Yoshida-Sarkoms	36
b) Die Wirkung von Nabelschnurserum und Menschenserum auf die Phosphataufnahme von Walker-Carcinom und embryonalen Lebern.	37
7) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Aufnahme von radioaktiv markiertem Adenin durch embryonale Lebern und Nieren in der Uhr- glasmethode	38
a) Die Aufnahme von radioaktiv markiertem Adenin durch embryona- le Lebern in der Uhrglasmethode	39
b) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Aufnahme von C ₁₄ markiertem Adenin durch embryonale Lebern und Nieren in der Uhrglasmethode	40
c) Die Wirkung von Nabelschnurserum und Butazolidin auf die Adenin- aufnahme embryonaler Leberzellen	40
8) Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Nabelschnurserum und Menschenserum auf die Adeninaufnahme embryonaler Lebern und Tumoren in der Uhrglasmethode	41
DISKUSSION DER VERSUCHSERGEBNISSE	42

ZUSAMMENFASSUNG 50

LITERATURVERZEICHNIS 52



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555212_0073

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Grundeigenschaften des Lebens sind der Stoffwechsel und die Vermehrung der Nucleotide. Aus dem Zusammenspiel dieser beiden Vorgänge resultiert das biologische Wachstum. Wachstum ist somit ein komplexer Begriff, das den Stoffwechsel zur Voraussetzung hat. Dieser liefert die nötige Energie, die zum Aufbau zelleigener Substanz nötig ist. Es ist nun so, dass kein Zellpartikel sich dauernd in Ruhe befindet, vielmehr findet ein ununterbrochener An- und Abbau von Zellsubstanz statt. Es werden nicht nur Körperbausteine gegen gleichartige Stoffe, die mit der Nahrung zugeführt werden, ausgetauscht, sondern auch die Körperbausteine selbst unterliegen einem ständigen Wechsel ihrer Zusammensetzung und gehen ineinander über. Die Gesamtheit dieser Vorgänge bezeichnet man als Erhaltungsstoffwechsel. Streng genommen ist dessen Hauptzweck der Ersatz verbrauchter Zellsubstanzen bis an die Grenze der alten Zellform. Wird nun der Zellbestand über die alte Form hinaus vermehrt, so ergibt sich daraus ein Vorgang, der als Volumenwachstum definiert wird. Diese Zunahme bzw. Vergrößerung der Zelle ist die Grundbedingung für ihre Teilung, es kommt so zum numerischen Wachstum. Die Kräfte, die die Stoffwechselvorgänge bestimmen, sind sehr verschiedener Natur. Zweifellos spielen innercelluläre Faktoren eine Rolle; so spricht LETTERER (35) davon, dass die Zelle ihr Wachstum zum Teil selbst aus sich heraus in einer Art "autonomen Automatismus" regle. Welcher Art die dabei wirksamen Kräfte sind, ist nicht bekannt. Jedenfalls kommt dabei den Genen, die über das Fermentensystem der Zelle wirken und damit die Stoffwechselvorgänge steuern, eine entscheidende Bedeutung zu. VIRCHOW (49) sprach ganz allgemein von Lebenskraft. Er wies darauf hin, dass das Einzige, was wir am lebendigen Organismus wirklich nachweisen können, Vorgänge physikalisch-chemischer Art, also mechanische Bewegungen seien. Aus dem Gesetz von der Erhaltung der Energie folgerte er, dass diese Bewegung immer bestanden habe, dass sich also im Lauf der Zeit einmal einfache mechanische Bewegungen in solche umgewandelt haben, deren Ordnung für den lebendigen Organismus typisch ist. Sein Ausdruck Lebenskraft ist also durchaus in physikalisch-chemischer Hinsicht zu verstehen. Denn Leben ist wohl eine besondere Form atomarer und molekularer Bewegung. Wie bereits angedeutet ist es aber nun nicht so, dass die Stoffwechselvorgänge lediglich von intracellulären Kräften gesteuert werden, die wohl vor allem einen konstanten Ablauf hinsichtlich der Intensität der Stoffwechselprozesse bestimmen. Eine erhebliche Bedeutung kommt erwiesenermaßen auch extracellulären Faktoren zu, die bei wechselnder Beanspruchung der Körperorgane regulative Wirkungen ausüben. Unter extracellulären Faktoren seien im folgenden Substanzen verstanden, die von aussen auf die Zelle einwirken. Im Gesamtorganismus spielen dabei neuro-hormonale Faktoren und lokal entstehende Stoffwechselprodukte eine Rolle. Erst diese extracellulären

Faktoren schaffen die Voraussetzung zur Adaptation, der Anpassung von Körperorganen oder des Gesamtorganismus an erhöhte Leistung. Es müssen aber Substanzen dieser Art nicht unbedingt im Sinne einer Stoffwechselaktivierung wirken, sondern sie können ebenso gut eine hemmende Funktion ausüben. So vermutet z.B. TEIR (46, 47) im Hinblick auf das Wachstum ein Stimulator-Hemmstoffsystem. Unter normalen Umständen sind die Impulse beider Systeme im Gleichgewicht. Wird jedoch dieses Gleichgewicht nach einer Richtung verschoben, so kommt es zu Störungen des Wachstums.

Eine interessante Theorie über die Wirkung lokal entstehender Stoffwechselprodukte entwickelte 1922 HABERLAND (27), der die Vorgänge der Befruchtung und der darauf folgenden Zellteilungen näher ins Auge fasste. Nach ihm bedingt die mechanische Verletzung der Eizelle durch das Spermatozoon die Bildung von mitoseauslösenden Wundhormonen. Er rechnet aber auch mit der Möglichkeit der Bildung von Abbauprodukten des in die Eizelle eingedrungenen Spermatozoons, welche die folgenden Zellteilungen bewirken.

Von Wundhormonen schreibt auch v.GAZA (23), der Regenerationsvorgänge nach Traumen beschrieb. Er behauptet, dass für die Wundheilung die Entstehung von Zerfallsprodukten, eben der Wundhormone, die Voraussetzung bilde. Diese Zerfallsprodukte sind das Ergebnis der traumatischen Schädigung. Ausserdem sollen giftige Stoffwechselprodukte, die durch Unterbrechung der bisher geschlossenen Strombahn (Blut- und Lymphgefässe) entstehen, dabei eine Rolle spielen. Es käme dabei zur Gewebsautolyse, die er in Isolyse durch gewebeigene und Heterolyse durch gewebfremde Elemente, d.h. Leukozyten, gliedert.

Dass die Leukozyten tatsächlich in der Lage sind wachstumsfördernde Substanzen zu bilden, konnte CARREL (12) in einem eleganten Versuch nachweisen. Er züchtete in Flaschen Milzkulturen, die sich in einiger Entfernung von Fibroblastenkulturen befanden. Nach einigen Tagen liessen die Fibroblasten regressive Veränderungen erkennen. Die Leukozyten der Milzkulturen dringen nach ihm gut in das Nährmedium ein. Als diese soweit gewachsen waren, dass sie die Fibroblasten erreichten, kam es zu deren Proliferation. Die Stoffe, die dabei von den Leukozyten gebildet werden, nennt er Trephone.

Auch der Chirurg BIER (2) beschäftigte sich mit Regenerationsvorgängen und wies auf die entscheidende Bedeutung der Gewebsschädigung als Voraussetzung zur Heilung hin.

Mit der Suche eines "Regenerationsfaktors" beschäftigten sich auch WRBA, RIPOLL-GOMEZ und RANZ (56). Sie berichten, dass mit Hilfe der Untersuchung von Organkulturen der embryonalen Rattenleber auf ihre Phosphataufnahme eine stimulierende Wirkung im Blutserum hepatektomierter Ratten nachweisbar wurde. Sie konnten ferner nachweisen, dass dieser Faktor nicht artspezifisch ist, da auch Goldhamsterserum nach teilweiser Hepatektomie auf Rattenleberkulturen im gleichen Sinne wirkt, wie entsprechendes Rattenserum (WRBA, RANZ und RIPOLL-GOMEZ (55)).

Auch GLINOS und GEY (24) studierten das Wachstum von Leberzellen in Gewebekulturen von partiell hepatektomierten Ratten. Sie konnten zeigen, dass das Wachstum durch Normalserum in hoher Konzentration gehemmt wird, während es durch das Serum von partiell hepatektomierten Ratten in hoher Konzentration ausserordentlich angeregt wurde. In ähnlicher Weise spritzten TEIR und RAVANTI (48) Leberzellen intraperitoneal, was den Leberstoffwechsel steigerte.

Nach MENKIN (38) schliesslich ist praktisch jede Form der Regeneration auf einen vorher stattgehabten Gewebsuntergang zurückzuführen. Die Klärung der Vorgänge, die sich bei der Regeneration abspielen, ist heute besonders aktuell, da im Rahmen der seit einigen Jahren angewandten Frischzellentherapie Fragen auftauchten, die sich mit dem Auftreten und der Wirkungsweise von stoffwechsel- bzw. wachstumsstimulierenden Stoffen beschäftigen. WRBA und KALB (52) konnten in vitro die Existenz eines in der Placenta enthaltenen stoffwechselsteigernden Faktors nachweisen, der auch nach Erhitzen auf 100°C noch wirksam ist, wonach ein Eiweisskörper als wirksame Substanz auszuschliessen ist.

JACQUEZ und BARRY (32) fanden einen wachstumssteigernden Faktor im menschlichen Nabelschnurserum. Nach ihnen befindet sich dieser in der Euglobulinfraktion und ist bis 60°C erhitzbar.

FISCHER und ASTRUP (20) beschäftigten sich mit der Wirkungsweise des Embryonalextraktes von Hühnchen und fanden 2 Substanzgruppen für das normale Zellwachstum in vitro notwendig. Die eine ist das Embryonin, ein Nukleoprotein, die andere soll sich in dialysablen Substanzen des Serums befinden, die Zelldegeneration in vitro verhindern. Damit befinden wir uns bereits mitten in dem Fragekomplex, welche chemische Natur den stoffwechselwirksamen Faktoren zukommt.

Sowohl im Gesamtorganismus als auch in der Gewebekultur spielt grundsätzlich ein quantitativ und qualitativ ausreichendes Nährstoffangebot eine Rolle. Bei Fehlen eines für die Zelle wichtigen Faktors kommt es zu Störungen des Wachstums. Vitamine und Hormone wirken teils stoffwechselaktivierend, teils hemmend. So konnte CORNMAN (17) eine Hemmung der Mitosen durch Desoxycorticosteron feststellen. Dieser Befund wurde mit der Gewebekultur gewonnen. Interessant ist, dass dieses Hormon im Ganztier im Gegensatz zu diesem Ergebnis die Bindegewebsneubildung anregt (SELYE (45)).

Ebenfalls wirkten in vitro Progesteron und Testosteron hemmend. GOETSCH (25) konnte nachweisen, dass unter Einfluss von Vitamin T bei Termiten Gigasformen auftreten.

BÜNGELER (8) untersuchte die Beeinflussung des Organstoffwechsels durch parenterale Reizkörperzufuhr. Zur Verwendung kamen Eiweisslösungen, Tusche, kolloidale Farbstoffe und Metalle. Für die meisten Reizkörper konnte im Anschluss an die Injektion eine schnell vorübergehende Senkung des Stoffwechsels festgestellt werden, die nach kurzer Zeit in eine für die verschiedenen Reizkörper verschieden lang andauernde Stoffwechselsteigerung überging. BÜNGELER (9) stellte weiterhin eine verschiedene Wirksamkeit bei quantitativen Änderungen fest: kleine Eiweiss-

mengen führten zur Steigerung, grosse verursachten eine Hemmung des Stoffwechsels. Die Polylysatherapie hält kleinste Eiweissreste, wie Aminosäuren und Peptide als wesentlich für therapeutische Effekte im Sinne einer Stoffwechselaktivierung.

Als wesentliches Moment der Wirkung bei Applikation von Zellen in den Organismus könnte Energieersparnis eine Rolle spielen. So konnte KREBS (34) finden, dass bei der Spaltung von Eiweiss bis zu den Aminosäuren nur 0,6 % der für den Abbau von Eiweiss bis zu Kohlensäure und Wasser und NH_3 notwendigen Gesamtenergie verbraucht wird, während für den Abbau der Aminosäuren zu den Einzelbestandteilen 99,4 % der Energie benötigt werden. Wenn man annimmt, dass solche Energiemengen für den Endabbau erforderlich sind, so liegt der Gedanke nahe für den Aufbau von Aminosäuren aus Einzelbestandteilen ähnliche Energiequanten zu fordern. So könnte dem Organismus bei Verabreichung von Zellen in Form einer i. m. Injektion ein sehr grosses Quantum an Energie erspart bleiben, das für andere Prozesse zur Verwendung stünde.

Experimentell wurde von einigen Autoren die Wirkung von Knochenmark und Milzhomogenisaten bzw. Suspensionen auf den Stoffwechsel von Ratten, die mit Röntgenstrahlen behandelt wurden, beschrieben. So konnte gefunden werden, dass diese Homogenisate einem grossen Teil von Tieren, die mit einer letalen Röntgenstrahlen Dosis behandelt wurden, das Leben erhielten. (BRUES (5); BROWN, KAPLAN, WEYMOUTH and PAULL (4)).

COLE, FISCHLER und BOND (16) vermuten als wirksames Prinzip ein hoch polymerisiertes Nukleoprotein, vielleicht einen DNS-Proteinkomplex (COLE and ELLIS (14)).

Dass das Homogenisat nicht artspezifisch ist, sondern dass auch Homogenisat von Mäusemilz bei Ratten wirkt, fanden u. a. COLE und ELLIS (15).

Die angeführten Beispiele zeigen, wie verschiedenartig die Stoffe sein können, die zu einer Stoffwechselbeeinflussung führen. RIETSCHER (43) beschreibt sehr eingehend die möglichen Wirkungen bei Applikation von Organhomogenisaten auf den menschlichen Organismus. Es würde zu weit führen im Rahmen unserer Arbeit hierauf näher einzugehen. Jedenfalls sollte an Hand des bisher Angeführten dargelegt werden, wie wesentlich für den Stoffwechsel und das Wachstum der Zellen nicht nur das quantitativ und qualitativ ausreichende Nährstoffangebot, sondern auch verschiedene Zusatzstoffe sind.

Der Zweck unserer Arbeit sollte es sein zu diesem zentralen Problem der allgemeinen Biologie einen Beitrag zu leisten, indem wir die Wirkung von körpereigenen Substanzen auf den Stoffwechsel und das Wachstum der Zellen untersuchten.

Dieses Problem ist auch in praktischer Hinsicht von grundlegender Bedeutung. Es wurde ja bereits auf die Zellulärtherapie hingewiesen. Zum anderen ergibt sich aus dem oben dargelegten die Wichtigkeit der Wahl des richtigen Nährbodens für die Pflege überlebender Gewebe im Sinne einer Gewebebank. WRBA und KAGEYA-MA (51) untersuchten die Eignung der Nährbodenzusammensetzung für die Pflege

explantierter Haut erwachsener Individuen.

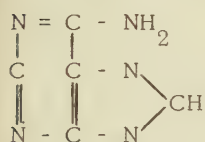
Als erstes trat bei der Behandlung dieses Problems die Frage nach einer geeigneten Methodik auf. VIRCHOW hatte in seiner Zellulärpathologie die Zelle als kleinste lebendige Einheit des lebendigen Organismus angesprochen. So schien es am vorteilhaftesten grundsätzliche Erscheinungen der Zellrätigkeit, wie sie ja Stoffwechsel und Wachstum darstellen, die Vorgänge sind, die jeder Zelle eigen sind, an möglichst einfachen Modellen zu studieren. Als geeignet erschien uns hierfür die Gewebekultur, die bei einigen Nachteilen doch den grossen Vorteil des Ausschlusses verwaschener Effekte, wie sie ja im Gesamtorganismus durch nervöse und hormonale Beeinflussung möglich ist, bietet. Als zweites ergab sich die Frage nach der Möglichkeit der Registrierung von Stoffwechselvorgängen. Unsere Wahl fiel dabei auf die Anwendung von radioaktiv markierten Isotopen. Zur Verwendung kamen das Isotop P^{32} und C^{14} markiertes Adenin.

Alle Lebensvorgänge verbrauchen Energien, die den Zellen von aussen zugeführt werden muss. Erst diese Energiezufuhr gewährleistet jene Heterogenität der Zelle, ohne welche das Leben sofort zum Stillstand kommen würde. Diese zeigt sich in Konzentrationsunterschieden verschiedener Stoffe innerhalb der Zelle (zit. HAAS (28)). Energie ist ferner notwendig für die besonderen Leistungen differenzierter Zellen und nicht zuletzt für den Aufbau der lebenden Substanz, wie bereits erwähnt wurde. Dies alles hat die Zufuhr von Nahrungsstoffen, insbesondere von Kohlehydraten, Fetten und Eiweiss zur Voraussetzung. Diese Stoffe werden in dem Prozess der Zellatmung und Gärung verbrannt, welche die Umwandlung energiereicher in energiearme Produkte bedeutet. Eine wesentliche Rolle in diesem sog. Energiestoffwechsel spielt die Glukose, die nach der Lavoisferschen Formel $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 6 CO_2 + 6 H_2O$ abgebaut wird. Diese Umwandlung verläuft über eine grosse Reihe von Zwischenprodukten unter Mithilfe von Fermenten. Das hat den Zweck der Freisetzung kleiner Energiequanten von Schritt zu Schritt, wodurch eine explosionsartige Freisetzung von Energien verhindert wird, was eine Zerstörung der Zelle zur Folge hätte. Kurz skizziert verläuft dieser Prozess über die Phosphorylierung der Glukose und deren Umwandlung zu Fruktose. Sodann erfolgt die Aufspaltung dieses Moleküls in kleinere Bruchstücke. Das Endprodukt dieser Zuckerspaltung ist die Brenztraubensäure, die im wesentlichen im Zitronensäurecyclus weiter verarbeitet wird. Über den Zitronensäurecyclus verläuft aber nicht nur die Endoxydation im Stoffwechsel der Kohlenhydrate, sondern auch im Stoffwechsel der Fette. Ausserdem ist er teilweise mit dem Stoffwechsel der Aminosäuren gekoppelt. Das wesentliche dieses Vorgangs ist die Umwandlung der C-Atome des Glukosemoleküls in CO_2 und H_2O . Für die Oxydation der Brenztraubensäure gilt die Bruttoformel: $CH_3.CO.CO_2OH + 5/2 O_2 \rightarrow 3 CO_2 + 2 H_2O$. Der Sauerstoff der Kohlensäure, stammt aus den Nahrungsstoffen, sowie aus Wassermolekülen, wo er im Laufe des Zitronensäurecyclus bei der Anlagerung von Wasser an die Moleküle, abgespalten wurde. Niemals stammt der in der Kohlensäure enthaltene Sauerstoff aus der bei der Atmung benötigten Luft. Dieser wird nur an die in der Glukosemolekül enthaltenen H-Atome angelagert. In ihrer Vereinigung mit dem Sauerstoff

weis auf die Vitalität des betreffenden Organs ist, die Tatsache auf, dass der Phosphatumsatz des erwachsenen Herzens höher ist, als der des embryonalen Herzens. Der erwachsene Herzmuskel hat also einen höheren Phosphatbedarf als der embryonale, ein Befund, der bei den übrigen embryonalen Organen umgekehrt ist.

Wie wir beschrieben haben, sind die energiereichen Phosphatverbindungen das Energieprinzip der Zelle. Sie spielen somit bei sämtlichen Prozessen, die Energie verbrauchen, eine Rolle. Es ist somit der Phosphatumsatz nur ein ganz allgemeiner Hinweis auf die Vitalität und Stoffwechselaktivität einer Zelle. Will man nun genauere Aussagen über das Wachstum einer Zellkultur machen, so müsste man als Indikator einen Stoff wählen, dem bei der Biosynthese der Eiweissstoffe, die der wesentlichste Prozess des Wachstums ist, eine Bedeutung zukommt. Wenn deshalb unsere Wahl auf C_{14} markiertes Adenin fiel, so geschah dies auf Grund folgender Überlegungen:

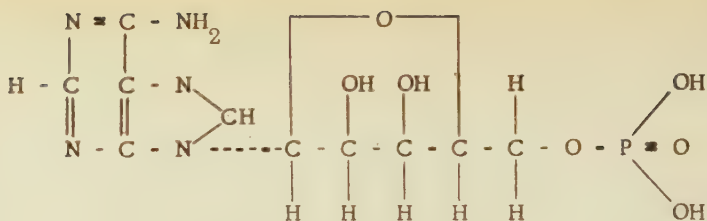
Adenin ist eine Vorstufe der Nucleinsäuren, die nach der Aussage verschiedener Autoren in besonderem Masse mit der Proteinsynthese verknüpft ist (CASPERSSON (11); BUTENANDT (7); BRUES, TRACY und COHN (6) u. a.). Bevor wir hierauf näher eingehen, möchten wir zunächst die chemische Struktur der Nukleinsäuren klären. FELIX (18) verdanken wir eine genaue Beschreibung des Aufbaues von



Adenin

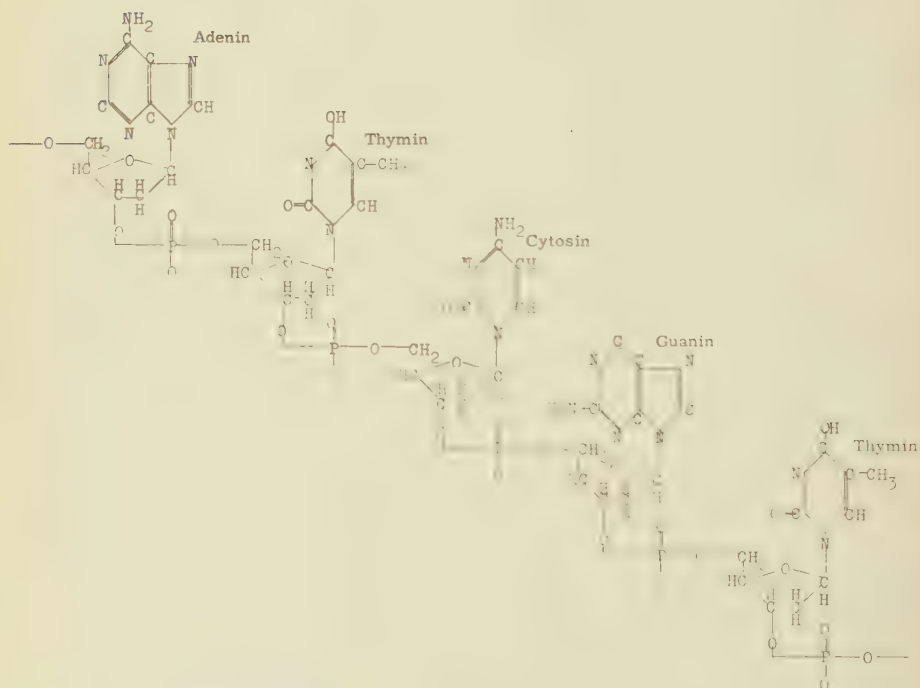
Nukleinsäuren. Diese setzen sich aus einfacheren Bestandteilen, den Nukleotiden zusammen, weshalb sie auch als Polynukleotide bezeichnet werden. Die Mononukleotide sind alle nach einem einheitlichen Prinzip gebaut: an eine Stickstoffbase vom Purin- oder Pyrimidinring ist über eine Pentose Phosphorsäure gebunden. Als Stickstoffbasen kommen in Betracht: Adenin, Guanin, Cytosin, Uracil,

5-Methylcytosin und Thymin. Bei der Pentose handelt es sich um Ribose oder Desoxyribose. Diese Mononukleotide sind untereinander durch Esterbrücken verbunden, indem die Phosphorsäure des einen Nukleotids sich mit einer Hydroxylgruppe der Pentose des benachbarten verbindet. Es entstehen auf diese Weise langkettige Moleküle bis zu 6 - 7000 Å Längenausdehnung und einem Molgewicht von 600 000 bis 1 000 000 (BUTENANDT (7)). Bei den auf diese Weise aufgebauten Nukleinsäuren unterscheidet man 2 grosse Gruppen, nämlich die Desoxyribonukleinsäuren (DNS) und die Ribonukleinsäuren (RNS). Sie unterscheiden sich dadurch, dass die DNS als Pentose Desoxyribose und die RNS Ribose enthält. Ferner besteht ein Unterschied im Auftreten der Purinbasen, so ist nach KARLSON (33) das Vorkommen von Thymin typisch für DNS, während die RNS dagegen Uracil enthalten. Auch stereochemisch bestehen Unterschiede. Es seien im folgenden als Beispiel eines Nukleotids die Adenylsäure aus der RNS angeführt, sodann folgt das Schema der Polynukleotidkette in einer DNS.



Formel der Adenylsäure

Als Basen sind im untenstehenden Schema (nach KARLSON (33)) die Purinderivate Adenin und Guanin und die Pyrimidine Cytosin und Thymin angeführt.



Schema der Polynukleotidkette in einer DNS

Bemerkenswert wäre noch, dass die Nukleinsäuren in der Zelle nicht in freier Form, sondern an Eiweiss gebunden vorkommen. Sie werden in dieser Form als Nukleoproteide bezeichnet. Dass die Nukleinsäuren bei der Proteinsynthese eine besondere Rolle spielen, konnte FELIX (18) nachweisen. Er fand, dass

Zellen, welche viel Eiweiss produzieren, regelmässig reich an Nukleinsäuren sind. Dies gilt z.B. für die Leberzellen, welche das Blutplasma synthetisieren. Der gleiche Befund konnte an Pankreaszellen festgestellt werden, wo die Verdauungssäfte produziert werden. Er fand ferner, dass bei der Proteinsynthese vor allem die RNS eine Rolle spielen, deren Gehalt in Leber- und Pankreaszellen hoch ist, während die DNS Fraktion niedriger ist. Der DNS Gehalt dagegen war in den Zellen der Darmschleimhaut deutlich höher als der RNS-Gehalt, was den Schluss zulässt, dass die DNS bei der Zellteilung die Hauptrolle spielt, da ja die Darmepithelien die höchste Mitoserate im menschlichen Organismus haben (RIETSCHEL (43)). In diesem Sinne sagte auch LETTÉ (36), dass der eigentliche Reiz der Zellteilung die Produktion der doppelten Menge DNS sei.

Über den Zusammenhang zwischen Nukleinsäuren und Proteinsynthese hat CASPERSSON (10, 11) folgende Ideen ausgesprochen: zwischen den Mitosen einer Zelle liegt eine Wachstumsperiode, die durch eine gewaltige Vermehrung der Proteinmasse der Zelle, welche quantitativ viel grösser ist als die ebenfalls periodisch erfolgende Verdoppelung der Gene bei der vorausgehenden Zellteilung. Diese neugebildeten Proteine werden entweder dem Cytoplasma einverleibt oder nach aussen abgegeben, wie z.B. bei einer sezernierenden Drüsenzelle. Bei dieser Proteinsynthese kommt nun den Nukleinsäuren eine entscheidende Bedeutung zu, und damit auch allen Zellorganen, die reich an Nukleinsäuren sind, wie Kern, Nukleolus und cytoplasmische Granula. Die Nukleinsäure findet sich im Kern in den Chromosomen und im Nukleolus. Die Chromosomen enthalten sowohl DNS als auch RNS. CASPERSSON (10, 11) bezeichnet die Teile der Chromosomen, die DNS enthalten, als Euchromatin. Dieses kontrolliert nach ihm die Synthese jener komplexen Proteine, welche mit den Genen in Beziehung stehen. Die RNS-haltigen Teile der Chromosomen bezeichnet er als Heterochromatin, ihre Funktion soll in der Synthese von niedriger organisierten Proteinen des Cytoplasmas bestehen. Diese sammeln sich zunächst im Nukleolus, welcher vom Heterochromatin organisiert wird. Dann diffundieren sie in das Cytoplasma hinaus, wo sie die Synthese von RNS stimulieren. Die RNS des Cytoplasmas schliesslich stimuliert die Synthese von Cytoplasmaproteinen.

Andere Forscher wie BRACHET (3) verlegen im Gegensatz zu dieser Auffassung den Sitz der Proteinsynthese in das Cytoplasma, wobei die cytoplasmische Granula eine Rolle spielen soll. Abschliessend sei noch kurz die mögliche Wirkungsweise der Nukleinsäuren bei der Proteinsynthese geschildert. Bei diesem Prozess erfolgt zunächst die Kondensation der Aminosäuren, sodann wird die dadurch entstandene Peptidkette in der Art gefaltet, dass ein für die betreffende Proteinmolekel spezifische Form entsteht. Den Nukleinsäuren soll nun nach Aussagen verschiedener Forscher die Rolle eines Modells für die neu zu bildende Proteinmolekel zukommen. Diese Auffassung der sogenannten Matrizen-Theorie der Proteinsynthese vertritt z.B. FRIEDRICH-FRESKA (21, 22), der die synthetisierte Proteinmolekel als positiven Abdruck einer negativen Matrix, eben der Nukleinsäure, bezeichnet.

Er sieht also die Nukleinsäure als ein Negativ an, über welches die Reproduktion des Positives der Eiweisstruktur verläuft, in ähnlicher Weise wie bei einem technischen Reproduktionsvorgang, welcher ja auch ein Negativ benötigt.

Aus dem oben gesagten ergibt sich die Tatsache, dass die identische Reproduktion allein den Nukleinproteiden zukommt, während z.B. die Globuline kein Abbild ihrer selbst herstellen können. Somit ist die Selbstverdoppelung der Nukleinsäure eine der wesentlichsten Eigenschaften des Lebendigen, wie eingangs bereits erwähnt wurde.

Es dürfte auf Grund des oben gesagten eine Tatsache sein, dass die Aufnahme von Adenin zur Protheinsynthese in Proportion steht.

MATERIAL UND METHODE

Die Versuche wurden mit Hilfe der vergleichenden Gewebekultur durchgeführt, d. h. es wurde eine Reihe von Versuchskulturen mit den zu testenden Präparaten angelegt und ebensoviele Kontrollkulturen, wobei die Mittelwerte der Aktivitätsimpulse aus beiden Reihen einander gegenübergestellt wurden. Die Organexplantate wurden nach 2 verschiedenen Methoden gezüchtet. Für die Fibroblastenkulturen fand die Deckglasmethode Anwendung, die Uhrglasschälchenzüchtung schien für das Studium des Wachstums embryonaler Rattenorgane (Leber, Niere, Herz) geeignet.

A) DIE DECKGLASMETHODE

Sie wurde als Methode des hängenden Tropfens zuerst von HARRISON (29), CARREL, BURROWS (13) u. a. angegeben. Das Nährmedium wird dabei mit Hilfe von Pipetten auf ein Deckglas aufgetropft und mit einem Spaltmesser durch Umrühren soweit verbreitert, dass die vom Medium berührte Fläche im Durchmesser 2 mm kleiner ist als die hohlgeschliffene Öffnung eines darüberzulegenden Objektträgers. Zur Befestigung des Objektträgers gibt man mit einem Glasstab eine Spur Vaseline an 2 Stellen, die eine Diagonale bilden, oben und unten auf das Deckglas. Sodann wird nach Einpflanzen der Organkulturen der Objektträger auf das Deckglas gedrückt. Um ein Austrocknen der Explantate zu verhindern, wurden die Ränder des Deckglases mit erhitztem, flüssigem Paraffin bestrichen, sodass nach Erstarren desselben das zu züchtende Gewebe sich in einer abgeschlossenen Kammer befand.

Der Nährboden bestand aus einem Gemisch von Hühnerplasma mit Hühnchenembryonalextrakt, wozu noch die zu testenden Substrate kamen. So verwendeten wir z. B. als Kontrollansatz ein Gemisch von 1 Tropfen Plasma und 2 Tropfen Embryonalextrakt sowie 1 Tropfen radioaktiven Phosphats. Beim Versuchsansatz wurde der Embryonalextrakt durch die zu testende Substanz ersetzt.

Das Nährmedium wurde mit Hilfe eines Spaltmessers sorgfältig vermischt, um Konzentrationsunterschiede zu vermeiden, sowie um ein Auslaufen des Mediums zu verhindern.

Die Gewebestückchen wurden unter streng sterilen Bedingungen Hühnerembryonen entnommen, die aus 3 Wochen lang bebrüteten Eiern stammten. Zur Verwendung kamen Beine und Herzen, die nach Entnahme für höchstens 3 Stunden in Hanks Lösung aufbewahrt und in den Eisschrank gestellt wurden. Sodann erfolgte die Aufarbeitung der Gewebestückchen in folgender Weise: mit 2 Spaltmessern wurden die Beine bzw. Herzen soweit zerkleinert, dass Gewebestückchen entstanden, deren Kantenlänge in der Größenordnung unter 1 mm lag, wodurch eine gute Versorgung des Explantats mit Nährstoffen gewährleistet ist. Es wurde sorgfältig darauf geachtet, dass Stückchen gleicher Grösse entstanden. Sodann wurden je 3 Stück in den Nährboden nach dessen Erstarrung implantiert. Nach dem Ansatz stellten wir die Organkulturen für 48 Stunden in den Brutschrank, wo sie bei einer Temperatur von $37,5^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt wurden.

Da nach dieser Zeit das Nährmedium weitgehend verbraucht ist, und sich giftige Endprodukte des Stoffwechsels ansammeln, mussten die Kulturen umgesetzt werden, d.h. in einen frischen Nährboden gebracht werden. Es wurde dabei mit einem Spaltmesser das Deckglas vorsichtig vom Objektträger gelöst und das Organstückchen aus dem alten Nährboden herausgeschnitten. Es wurde dabei ein keilförmiger Teil des aus meist degenerierten, verfetteten Zellen bestehenden, zentralen Mutterstücks entfernt. Es trat dabei die Schwierigkeit auf, möglichst viel von der peripheren Wachstumszone, die eine sehr geringe Schichtdicke hat, mit herauszuschneiden. Die Organkulturen wurden sodann in 5 ml Hanks Lösung gewaschen und dann in der oben beschriebenen Weise in frisches Nährmedium eingebettet.

Wir führten bei dieser Methode mindestens 3 Passagen durch, d.h. die Kulturen wurden zweimal umgesetzt, bevor wir die zu testenden Präparate zugeben, die wir ebenfalls 48 Stunden lang einwirken liessen. Diese mehrfachen Passagen hatten den Zweck, eine "reine" Fibroblastenkultur zu erhalten, da erst nach mehreren Tagen die anfangs mitwuchernden bzw. überlebenden Knorpel-, Epithel- und Muskelzellen zugrunde gehen.

B) DIE UHRGLASSCHÄLCHENZÜCHTUNG

Dieses Kulturverfahren wurde zuerst von FELL (19) angegeben. Die Organkultur befindet sich hierbei in einem Uhrglas, das auf einem feuchten Wattering in eine Petrischale gegeben wird, und sich somit in einer "feuchten Kammer" befindet. Als Kontrollansatz verwendeten wir in diesem Falle ein Gemisch aus 3 Tropfen Hühnerplasma und 4 Tropfen Embryonalextrakt, sowie 1 Tropfen radioaktiven Phosphats. Bei den Versuchskulturen wurden 2 Tropfen Embryonalextrakt durch die zu testende Substanz ersetzt.

Als Versuchsmaterial dienten bei dieser Methode, wie bereits erwähnt, Organe von Ratteneimbryonen des 16. bis 18. Schwangerschaftstages. Die embryonalen Organe wurden unter sterilen Bedingungen mittels feiner Scheren aus den Embryonen herausgeschnitten, nachdem man die Muttertiere vorher durch Genickschlag getötet und den Uterus herausgelöst hatte. Es handelte sich um Ratten des Albinotyps. Zur Verwendung kamen Lebern, Nieren und Herzen.

In einem Falle arbeiteten wir mit Nebennierenkulturen einer erwachsenen Ratte.

Die Aufarbeitung der Gewebestückchen erfolgte wie bei der ersten Methode.

Das zu untersuchende Präparat wurde in diesem Falle sofort beim Ansatz den Organkulturen zugegeben. Nachdem die Gewebekulturen 48 Stunden im Brutschrank gehalten wurden, erfolgte ihre Auslösung aus dem Nährmedium.

Daraufhin wurden sie für die Messung vorbereitet. Das Verfahren war bei beiden Methoden das gleiche und wird in Absatz C beschrieben.

C) DIE MESSUNG DER AKTIVITÄT

Die herausgeschnittenen Gewebestückchen wurden in 5 ml Hanks Lösung 5 Minuten gewaschen. Anschliessend gab man sie auf eine Fritte, wo sie unter Absaugen mit Hanks Lösung nachgewaschen wurden, um möglichst allen äusserlich anhaftenden radioaktiven Phosphor bzw. C_{14} markiertes Adenin zu entfernen.

Die mit P_{32} versetzten Gewebestückchen wurden in Gruppen zu je 3 Stück auf einen Kronenkork gegeben, für 1 Stunde im Brutschrank getrocknet und sodann im Geigerzähler auf ihre Aktivität untersucht.

Die mit C_{14} markiertem Adenin versetzten Stückchen kamen auf ein kreisrundes Metallplättchen, ebenfalls in Gruppen zu 3 Stück. In diesem Falle wurde die Aktivität im Methandurchflusszähler bestimmt.

Die Auflage mehrerer Stücke pro Plättchen hatte den Zweck, Differenzen hinsichtlich der Grösse der Organkulturen weitgehend auszugleichen, um übermässige Aktivitätsunterschiede zwischen den einzelnen Kulturen zu verhindern.

Bei der Aktivitätsmessung der Organstückchen, die mit C_{14} , einem sehr weichen Strahler, versetzt wurden, ist ferner zu beachten, dass die Selbstabsorption und Ablenkbarkeit der Strahlung durch die Organstückchen hoch ist, so dass dadurch auf Grund der verschiedenen Formen der einzelnen Kulturen beträchtliche Unterschiede hinsichtlich der Höhe der Aktivität möglich sind. Das Ideal wäre in diesem Falle eine Homogenisierung der Stückchen.

P_{32} wurde als trägerfreies Orthophosphat benutzt. Es handelt sich bei diesem Isotop um einen β -Strahler einer Intensität von 1,69 MeV mit einer Halbwertszeit von 14,3 Tagen, wobei ^{32}P in ^{32}S übergeht.

Beim C_{14} handelt es sich ebenfalls um einen β -Strahler (0,15 MeV) mit einer Halbwertszeit von etwa 5 000 Jahren, wobei C_{14} in N_{14} übergeht.

1) Die Aufnahme radioaktiven Phosphats durch Organkulturen

Es sollte im folgenden zunächst gezeigt werden, ob es sich bei der Aufnahme des radioaktiven Phosphats aus dem Nährboden tatsächlich um eine aktive Stoffwechselleistung der Organkultur oder lediglich um eine passive Penetration von P_{32} in die Zellkultur handle. Zu diesem Zweck schnitten wir aus dem Nährboden-Gerinnsel kleine Vergleichsstückchen heraus, die in der Grössenordnung möglichst genau den Gewebestückchen entsprachen. Um identische Verhältnisse zu schaffen, wurden entsprechend der beschriebenen Aufarbeitung der Organkulturen ebenfalls je 3 solche Nährbodenstückchen auf einen Kronenkorken gegeben und die Aktivität im Geigerzählrohr gemessen.

a) Die Aufnahme radioaktiven Phosphats durch Fibroblasten in der Deckglaskultur

Nährboden: 1 Tropfen Hühnerplasma + 2 Tropfen Hühnerembryonalextrakt + 1 Tropfen P_{32} (Konzentration 100 $\mu C/ml$).

Die Zahlen der Tabellen entsprechen den gemessenen Aktivitätsimpulsen pro Minute.

Die Buchstaben B bedeuten Fibroblastenkulturen von Hühnerbeinen, die Buchstaben H Fibroblastenkulturen von Hühnerherzen. Ko bedeutet Kontrolle, es handelt sich dabei um die Stückchen aus dem Nährboden-Gerinnsel.

E = Mittelwert der Aktivitätsimpulse.

TABELLE 1

B_1	164	Ko_1	48
B_2	186	Ko_2	10
$E = 175$		$E = 29$	

TABELLE 3

H_1	189	Ko_1	37
H_2	75	Ko_2	55
H_3	61	Ko_3	11
H_4	95	Ko_4	16
H_5	115	Ko_5	10
H_6	130	Ko_6	76
$E = 111$		$E = 23$	

TABELLE 2

B_1	273	Ko_1	25
B_2	200	Ko_2	17
B_3	268	Ko_3	9
$E = 247$		$E = 51$	

Die Aktivitätsimpulse der Organstückchen liegen also bedeutend höher als diejenigen des Nährbodens, d.h. sie nehmen sehr lebhaft aktives Phosphat aus dem Nährboden auf.

b) Die Aufnahme radioaktiven Phosphats durch Milzkulturen

M = Milzzellen, E = Mittelwert der Aktivitätsimpulse, Zahlen = Impulse/Min.

TABELLE 4

M ₁	35	
M ₂	16	
M ₃	14	E = 22
M ₄	13	
M ₅	33	

TABELLE 5

M ₁	41	
M ₂	19	
M ₃	16	E = 23
M ₄	23	
M ₅	29	

Die Tabelle zeigt, dass auch Milzzellen Aktivität anreichern. Wenn die Aktivitätsimpulse im Vergleich zu den Fibroblasten geringer sind, so ist dies wohl vor allem der Ausdruck der niedrigeren Konzentration von radioaktivem Phosphat (in diesem Falle etwa 30 $\mu\text{C/ml}$ gegenüber der sonstigen Konzentration von 100 $\mu\text{C/ml}$).

2) Die Wirkung verschiedener Placentapraeparate auf die Phosphataufnahme von Fibroblastenkulturen in der Deckglaskultur

Bei den folgenden Versuchen wurde die Stoffwechselbeeinflussung von Fibroblastenkulturen durch pulverisierten und frischen Extrakt von Humanplacenten unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Ferner testeten wir die Wirkung eines von der pharmazeutischen Industrie hergestellten Placentapräparates (Inplacen).

a) Die Wirkung von pulverisiertem Placentaextrakt auf die Phosphataufnahme von Herzfibroblastenkulturen

Es soll zunächst die Herstellung des Extraktes beschrieben werden. Zu 1 g pulverisierter Placenta gab man 10 ml steriles, destilliertes Wasser. Nachdem dieses Gemisch 10 Minuten bei 15 000 Umdrehungen pro Minute homogenisiert worden war, liess man es für eine Stunde stehen, worauf es 30 Minuten lang bei 50 000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert wurde. Der flüssige Überstand diente als Testsubstanz.

Nährboden: Testkulturen: 1 Tr. Plasma + 2 Tr. pulv. Placentaextrakt + 1 Tr. P₃₂
(100 $\mu\text{C/ml}$)

Kontrollkulturen: 1 Tr. Plasma + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 6

TK ₁	134	Ko ₁	131
TK ₂	102	Ko ₂	124
TK ₃	94	Ko ₃	133
TK ₄	79	Ko ₄	168
TK ₅	80	Ko ₅	143
E	= 97	E	= 139

- 43 %

Aus dieser Tabelle ergibt sich, dass der Stoffwechsel durch den Extrakt um 43 % gehemmt ist.

b) Der Einfluss frischen Placentaextraktes auf die Phosphataufnahme von Hühnerbeinfibroblasten

Es wurden Humanplacenten verwendet, die für höchstens 8 Stunden nach der Geburt im Eisschrank aufbewahrt wurden. Ihre Aufarbeitung geschah auf folgende Weise: 100 g frische Placenta gab man auf 10 g steriles, destilliertes Wasser. Sodann wurde 10 Min. homogenisiert, das Gemisch blieb 1 Stunde stehen, sodann wurde es 30 Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde als Testsubstanz verwendet.

Nährboden: Testkulturen (TK): 1 Tr. Plasma + 2 Tr. frischer Placentaextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 μ C/ml).

Kontrollkulturen (Ko): 1 Tr. Plasma + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr.

P₃₂

TABELLE 7

TK ₁	17	Ko ₁	22
TK ₂	15	Ko ₂	108
TK ₃	29	Ko ₃	90
TK ₄	12	Ko ₄	117
TK ₅	20	Ko ₅	138
E	= 18	E	= 95

- 427 %

Zahlen = Impulse/Min.

Daraus ergibt sich, dass die Aktivität der Kontrollkulturen 5 mal höher ist als die der Testkulturen.

Wir suchten nach einer Erklärung für den stark depressiven Effekt des Homogenisats bei den beschriebenen Versuchen und rechneten mit der Möglichkeit einer derartigen Intensivierung des Zellstoffwechsels durch die Homogenisate, dass es

dadurch zur Erschöpfung und folgender Degeneration der Zellen des Explantats käme. Mikroskopisch konnte man beobachten, dass die Testkulturen hochgradig verfettet waren. Wir liessen deshalb im folgenden Versuch das Präparat auf die Hälfte der Organkulturen nur 24 Stunden, auf die andere Hälfte wie üblich 48 Stunden lang einwirken.

- c) Die Beeinflussung des Zellstoffwechsels durch frisches Placentahomogenisat bei verschiedenen langen Einwirkungszeiten

Nährboden: Testkulturen (TK): 1 Tr. Plasma + 2 Tr. frischer Placentaextrakt + 1 Tr. P_{32} (100 $\mu\text{C}/\text{ml}$).

Kontrollkulturen (Ko): 1 Tr. Plasma + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32}

Herstellung des Placentaextraktes: siehe letzter Versuch. Dieser Versuch wurde mit Herzfibroblasten durchgeführt.

TABELLE 8

TK ₁	31	Ko ₁	50
TK ₂	52	Ko ₂	57
TK ₃	32	Ko ₃	50
TK ₄	35	Ko ₄	52
E	= 37	E	= 52
- 40 %			

Zahlen = Impulse/Min.

24-stündige Einwirkungszeit des Homogenisats

TK ₁	20	Ko ₁	55
TK ₂	25	Ko ₂	62
TK ₃	10	Ko ₃	61
TK ₄	12	Ko ₄	45
E	= 14	E	= 56
- 300 %			

48-stündige Einwirkungszeit des Homogenisats

Auch hier war ein deutlich depressiver Effekt des Homogenisats nachzuweisen, bemerkenswert ist jedoch, dass die Aktivität der Testkulturen im 1. Fall (24-stündige Einwirkungszeit) fast um das dreifach höher liegt als im 2. Fall (48-stündige Einwirkungszeit).

Die pharmazeutische Industrie bringt seit einiger Zeit Extrakte verschiedener Organe heraus, die in der sog. Gewebetherapie Anwendung finden. Es lag nahe, die Wirkung eines solchen Präparates auf die Gewebekultur zu studieren. Wir griffen das Inplacen heraus, ein von der Firma Merz hergestelltes Präparat aus Humanplacenten. Über die Zusammensetzung und Konzentration des Mittels ist uns nichts bekannt.

d) Die Beeinflussung der Phosphataufnahme von Hühnerbeinfibroblasten durch Inplacen

Nährboden: Testkulturen (TK): 1 Tr. Plasma + 1 Tr. Inplacen (im Verhältnis 1 : 1 mit Hanks Lösung verdünnt) + 1 Tr. P_{32} (100 $\mu C/ml$)
 Kontrollkulturen (Ko): 1 Tr. Plasma + 1 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32}

TABELLE 9

TK ₁	61	Ko ₁	55
TK ₂	77	Ko ₂	60
TK ₃	69	Ko ₃	54
TK ₄	63	Ko ₄	62
TK ₅	72	Ko ₅	70
TK ₆	50	Ko ₆	62
E	= 65	E	= 52

+ 25 %

Zahlen = Impulse/Min.

Aus Tabelle 9 ergibt sich also ein stoffwechselsteigernder Effekt des Inplacen von + 25 %.

Im folgenden untersuchten wir die Wirkung verschiedener Placentapräparate auf embryonale Organe (Leber und Niere) von Rattenkeimen des 16. - 18. Schwangerschaftstages. Als Methode fand nun die Uhrglasschälchenzüchtung Anwendung.

3) Die Wirkung verschiedener Placentapraeparate auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenorgane in der Uhrglasmethode

Wir testeten zunächst einige pharmazeutische Präparate und zwar Inplacen, Regeneresen, Siccacell sowie ein österreichisches, pulverisiertes Placentapräparat. Sodann untersuchten wir Extrakt von Humanplacenten in frischem, gekochtem und mazeriertem Zustand. Als letztes wurde die Wirkung eines Nebennierenpräparates (Siccacell) auf die Nebenniere einer erwachsenen Ratte in der Gewebekultur untersucht. Das interessanteste Ergebnis lieferte Tabelle 26, wo wir frischen Extrakt von Humanplacenten in verschiedener Konzentration den Organkulturen zusetzten.

a) Die Wirkung von Inplacen auf die Phosphataufnahme
embryonaler Lebern und Nieren von Ratten

Nährboden: Testkulturen (TK): 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Embryonalextrakt + 2 Tr.
Inplacen + 1 Tr. P_{32} (100 $\mu\text{C}/\text{ml}$)
Kontrollkulturen (Ko): 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr.
 P_{32}

TABELLE 10
Leberzellen

TK ₁	45	Ko ₁	119
TK ₂	33	Ko ₂	99
TK ₃	45	Ko ₃	77
TK ₄	22	Ko ₄	76
E = 36		E = 92	
- 155 %			

TABELLE 11
Nierenzellen

TK ₁	82	Ko ₁	135
TK ₂	171	Ko ₂	186
TK ₃	211	Ko ₃	314
E = 155		E = 211	
- 37 %			

In diesem Falle ist ein deutlich depressiver Effekt auf die Phosphataufnahme zu beobachten.

b) Die Wirkung von Regeneresen und Siccacell auf die Phosphataufnahme
embryonaler Lebern und Nieren

Die Regeneresen Therapie in Klinik und Praxis wurde von DYCKERHOFF entwickelt. Er versucht, die in den Zellen enthaltenen aufbauenden Fermente unter Ausschaltung des Zelleiweisses zur Geltung zu bringen.

Siccacell sind Trockenzellen, d.h. Zellgewebsfragmente, die gefroren und gleichzeitig getrocknet werden. Wir verwendeten Siccacell von Placenten von Schafsfeten. Die Trockenzellen wurden für den Versuch mit einem beigegebenen Suspensionsmittel in therapeutischer Konzentration gelöst.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Regeneresen bzw. Siccacell +
2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32} (100 $\mu\text{C}/\text{ml}$)
Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32}

TABELLE 12
Leberzellen

R ₁	73	S ₁	41	Ko ₁	107
R ₂	65	S ₂	66	Ko ₂	87
R ₃	116	S ₃	111	Ko ₃	82
E = 84		E = 72		E = 92	
- 9 %		- 27 %			

Die Abkürzungen der Tabellen
12 bis 16 bedeuten:
R = Testkulturen mit Regenerese-
sen
S = Testkulturen mit Siccacell
K = Kontrollkulturen

TABELLE 13
Nierenzellen

R ₁	123	S ₁	25	Ko ₁	134
R ₂	171	S ₂	58	Ko ₂	155
		S ₃	63		
E = 147		E = 48		E = 144	
+ 0 %		- 240 %			

TABELLE 14
Leberzellen

R ₁	55	S ₁	31	Ko ₁	77
R ₂	76	S ₂	45	Ko ₂	45
		S ₃	45	Ko ₃	109
E = 65		E = 40		E = 89	
- 36 %		- 122 %			

TABELLE 15
Leberzellen

S ₁	424	Ko ₁	362
S ₂	373	Ko ₂	378
S ₃	290	Ko ₃	219
S ₄	344	Ko ₄	636
S ₅	318	Ko ₅	572
S ₆	317	Ko ₆	334
E = 344		E = 417	
- 21 %			

TABELLE 16
Nierenzellen

S ₁	356	Ko ₁	349
S ₂	334	Ko ₂	592
E = 345		E = 470	
- 38 %			

Sicacell wirkt also auf Grund der angeführten Tabellen offensichtlich bremsend auf die Phosphataufnahme, während beim Regeneresen insgesamt betrachtet der hemmende Effekt mässig ist.

c) Die Wirkung eines österreichischen pulverisierten Placentapraeparates auf die Phosphataufnahme embryonaler Leberzellen

Es handelt sich um ein Präparat der Lentia GmbH (Charge 8545). Davon wurde eine 1 %ige und eine 10 %ige Lösung hergestellt. Das Pulver wurde in Hanks Lösung aufgeschwemmt.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Embryonalextrakt + 2 Tr. Placenta Praep. (in 1 %iger bzw. 10 %iger Lösung) + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)
 Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 17

1 %ige Lösung

TK ₁	206	Ko ₁	190
TK ₂	235	Ko ₂	164
TK ₃	215	Ko ₃	235
TK ₄	169	Ko ₄	162
TK ₅	210	Ko ₅	138
TK ₆	163	Ko ₆	166
TK ₇	136	Ko ₇	139
E =	190	E =	170
+ 12 %			

TABELLE 18

10 %ige Lösung

TK ₁	214	Ko ₁	300
TK ₂	187	Ko ₂	302
TK ₃	321	Ko ₃	341
TK ₄	312	Ko ₄	365
TK ₅	90	Ko ₅	303
TK ₆	283	Ko ₆	321
TK ₇	157	Ko ₇	251
E =	223	E =	312
- 44 %			

Die 1 %ige Lösung zeigt eine geringe Steigerung von + 12 % auf die Phosphataufnahme, die 10 %ige Lösung lässt einen depressiven Effekt von - 44 % erkennen.

d) Die Wirkung frischen Extraktes von Humanplacenten auf die Phosphataufnahme embryonaler Lebern und Nieren

Der Extrakt wurde in der Weise hergestellt, dass 100 g Placenta mit 33 ccm sterilem, destillierten Wasser verdünnt wurden (Verhältnis 3 : 1). Die sonstige Aufarbeitung erfolgte auf die in Abschnitt 2) Teil b) beschriebene Weise.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Embryonalextrakt + 2 Tr. Placentaextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)
 Kontrollkulturen 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 19

Leberzellen

TK ₁	88	Ko ₁	379
TK ₂	58	Ko ₂	370
TK ₃	268	Ko ₃	279
TK ₄	332	Ko ₄	335
TK ₅	64	Ko ₅	230
TK ₆	107	Ko ₆	191
E = 153		E = 298	
- 95 %			

TABELLE 20

Nierenzellen

TK ₁	236	Ko ₁	271
TK ₂	138	Ko ₂	360
TK ₃	211	Ko ₃	241
TK ₄	201	Ko ₄	377
TK ₅	192	Ko ₅	314
TK ₆	115	Ko ₆	207
E	= 165	E	= 295
- 78 %			

Auch hier ist wieder, wie bei den Fibroblastenkulturen ein eindeutig stoffwechselhemmender Effekt des Homogenisates nachzuweisen.

Auf der weiteren Suche nach einer Erklärung dieses depressiven Effektes des Homogenisats auf den Stoffwechsel der Organkulturen rechneten wir mit der Möglichkeit einer Beteiligung des Homogenisats am Stoffwechsel, wodurch dem Explantat Nährstoffe entzogen würden. Um das zu verhindern wurde das Homogenisat in der Folge durch Hitze denaturiert.

e) Die Wirkung gekochten, nativen Placentaextraktes auf die Phosphataufnahme embryonaler Lebern und Nieren

Das Placentahomogenisat wurde im Verhältnis 3 : 1 verdünnt (auf 100 g Placenta kamen 33 ccm steriles, destilliertes Wasser). Die Aufarbeitung erfolgte wie in Abschnitt 2) Teil b) beschrieben. Dieses Homogenisat wurde 10 Minuten im Wasserbad gekocht. Es entstand eine feste Masse, die wir nochmal verdünnen mussten. Dieses Gemisch wurde 5 Minuten homogenisiert. Sodann wurde es eine halbe Stunde zentrifugiert und der Überstand als Testsubstanz verwendet. Die Endkonzentration des Homogenisats betrug 2 : 1, d.h. auf 2 Teile Placenta kamen 1 Teil H₂O.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. gekochter Placentaextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 21

Leberzellen

TK ₁	265	Ko ₁	255
TK ₂	279	Ko ₂	233
TK ₃	230	Ko ₃	270
TK ₄	254	Ko ₄	323
TK ₅	211	Ko ₅	213
E	= 248	E	= 258
- 4 %			

TABELLE 22

Nierenzellen

TK ₁	299	Ko ₁	397
TK ₂	245	Ko ₂	362
TK ₃	327	Ko ₃	370
TK ₄	332	Ko ₄	325
TK ₅	281	Ko ₅	230
E	= 296	E	= 338
- 14 %			

Das gekochte Homogenisat zeigte also eine mässig depressive Wirkung auf den Stoffwechsel.

Nach den Untersuchungen von FILATOW ist die biologische Wirkung von Gewebsautolysaten von der Aufbewahrungszeit abhängig. Nach einigen Tagen soll solchen autolysierten Geweben eine besonders hohe biologische Aktivität zukommen. Man muss annehmen, dass je nach Art der Zelle, der Temperatur und anderen Bedingungen es zu einem mehr oder weniger grossen enzymatischen Zerfall kommt und dabei neue Gewebsprodukte entstehen (zit. RIETSCHEL (43)). Wir untersuchten deshalb im folgenden die Wirkung solcher autolysierter Präparate auf die Gewebekultur.

f) Die Wirkung mazerierten Extraktes von Humanplacenten auf die Phosphataufnahme embryonaler Organe

Auch in diesem Falle wurde natives Homogenisat von Humanplacenten verwendet, das im Verhältnis 3 : 1 (3 Teile Placenta auf 1 Teil Wasser) verdünnt wurde. Dieser Extrakt wurde bei einem Versuch für einen Tag im Kühlschrank, bei einem 2. Versuch für 12 Tage im Kühlschrank aufbewahrt. Sodann wurde er zentrifugiert und der Überstand wurde als Testsubstanz verwendet. Zum Vergleich wurde in Tabelle 23 die Wirkung von Siccacell (Schaf, männlicher Fet; es handelte sich um Siccacell von Placenta) mit untersucht.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. mazerierter Placentaextrakt bzw.

Siccacell + 2 Tr. Embryonaleextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonaleextrakt + 1 Tr.

P₃₂

TK = Testkultur (Maz. Extrakt);

S = Kulturen mit Siccacell als Testsubstanz;

Ko = Kontrollkulturen

TABELLE 23

Leberzellen

1 Tag maz. Extrakt

TK ₁	105	Ko ₁	234	S ₁	255
TK ₂	176	Ko ₂	258	S ₂	130
TK ₃	135	Ko ₃	251	S ₃	158
TK ₄	106	Ko ₄	215	S ₄	154
TK ₅	48	Ko ₅	282	S ₅	107
E = 114		E = 620		E = 402	
- 443 %				- 54 %	

TABELLE 24

Leberzellen

12 Tage maz. Extrakt

TK ₁	37	Ko ₁	111
TK ₂	48	Ko ₂	171
TK ₃	65	Ko ₃	141
TK ₄	50	Ko ₄	117
TK ₅	58	Ko ₅	134
TK ₆	44	Ko ₆	138
TK ₇	14	Ko ₇	141
E = 39		E = 136	
- 249 %			

Der Stoffwechsel der mit 1 Tag lang mazeriertem Extrakt versetzten Kulturen ist also um etwa das 5,4 fache niedriger, der Stoffwechsel der mit 12 Tage lang mazeriertem Extrakt versehenen Kulturen um etwa das 3,4 fache geringer (gegenüber den Kontrollen). Siccacell zeigte einen depressiven Effekt von - 54 %.

g) Die Wirkung von frischem Humanplacentenextrakt verschiedener Konzentration auf die Phosphataufnahme embryonaler Lebern

Bei unseren bisherigen Versuchen mit Placentaextrakt als Testsubstanz hatten wir eine Konzentration von 10 : 1 bzw. 3 : 1, d. h. auf 10 bzw. 3 Teile Placenta kam ein Teil steriles destilliertes Wasser bzw. Hanks Lösung. Wir hatten bereits einmal (siehe Seite 21) beschrieben, dass wir die depressive Wirkung des Placentaextraktes als Folge eines allzusehr gesteigerten Stoffwechselgeschehens ansahen, wobei es zur Degeneration der Gewebekultur kommen würde. Wir hatten deshalb den Extrakt verschieden lange einwirken lassen, wobei sich jedoch bereits nach 24-stündiger Einwirkungszeit eine Depression bemerkbar machte. Den Extrakt noch kürzere Zeit einwirken zu lassen, erschien aus technischen Gründen unmöglich. Zudem lag es auf der Hand als einfachere Massnahme die Konzentration des Extraktes zu ändern.

So verdünnten wir bei folgendem Versuch das Homogenisat im Verhältnis 1 : 1, 1 : 5 (1 Teil Placenta auf 5 Teile Hanks Lösung) und 1 : 10 (1 Teil Placenta auf 10 Teile Hanks Lösung). Dann erfolgte die Aufarbeitung des Extraktes wie in Teil 2) Abschnitt b) beschrieben. Auch in diesem Falle wurden nach dem Zentrifugieren vom Überstand den Kulturen je 2 Tr. zugesetzt.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Placentaextrakt (in verschiedener Verdünnung) + 2 Tr. Embryonaleextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 μ C/ml)
Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonaleextrakt + 1 Tr. P₃₂

Die Buchstaben der Tabelle bedeuten:

A = Testkulturen mit im Verhältnis 1 : 1 verdünntem Extrakt

B = Kulturen mit Extrakt im Verhältnis 1 : 5

C = Kulturen mit Extrakt 1 : 10 verdünnt

Ko = Kontrollkulturen

TABELLE 25

A ₁	496	B ₁	716	C ₁	646	Ko ₁	402
A ₂	441	B ₂	573	C ₂	421	Ko ₂	407
A ₃	441	B ₃	706	C ₃	493	Ko ₃	467
A ₄	466	B ₄	644	C ₄	468	Ko ₄	407
A ₅	497	B ₅	566	C ₅	481	Ko ₅	245
A ₆	409	B ₆	675	C ₆	436	Ko ₆	544
E = 458		E = 647		E = 490		E = 412	
+ 11 %		+ 57 %		+ 18 %			

Verd. Verh.

1 : 1

1 : 5

1 : 10

Damit ergibt sich eine eindeutig stoffwechselsteigernde Wirkung des im Verhältnis 1 : 5 mit Wasser verdünnten Extraktes. Dieser Effekt wurde auf + 18 % in dem 1 : 10 verdünnten Extrakt vermindert, in dem im Verhältnis 1 : 1 verdünnten Extrakt betrug er + 11 %.

Es ergibt sich also daraus, dass Placentaextrakt auf die Gewebekultur nur in bestimmtem Verdünnungsverhältnis im Sinne einer Stoffwechselsteigerung wirksam ist. Als optimale Konzentration bewährte sich der im Verhältnis 1 : 5 verdünnte Extrakt.

4) Die Wirkung von Nebennierenextrakt auf die Phosphataufnahme von Nebennieren erwachsener Ratten

In der Gewebetherapie wird als Wirkungsmechanismus u. a. die spezifische Wirksamkeit injizierter Zellen auf das korrespondierende Organ diskutiert. In diesem Sinne machte HENSCHEN (30, 31) interessante Untersuchungen. Er wies ein Gesetz der Gewebsspezifität nach, indem er fand, dass z. B. Knochenautolysate periostal und subperiostal eingespritzt eine Wucherung des Knochens und Hautautolysate ein vermehrtes Wachstum der Haut bewirkten. Hautautolysate wirkten dagegen nicht auf das Knochenwachstum, Knochenautolysate nicht auf das Wachstum der Haut fördernd ein. Diese Gedankengänge lagen unserem folgenden Versuch zugrunde, bei dem wir Trockenzellen von Nebenniere (Siccacell Nebenniere, Totalextrakt von Schafsembryonen) auf die Nebenniere einer erwachsenen, etwa 5 Monate alten Ratte vom Albinotyp einwirken liessen.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Siccacell Nebenniere + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32} (100 $\mu\text{C}/\text{ml}$)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32}

TABELLE 26

Nebennierenzellen

TK ₁	160	Ko ₁	184
TK ₂	149	Ko ₂	210
TK ₃	224	Ko ₃	172
TK ₄	177	Ko ₄	201
TK ₅	146	Ko ₅	142
TK ₆	182	Ko ₆	307
TK ₇	105	Ko ₇	231

Zahlen = Impulse/Min.

E = 171 E = 207

- 21 %

Siccacell Nebenniere zeigte also auf das homologe Organ einen depressiven Effekt. Nun ist beim Arbeiten mit Kulturen erwachsener Organe grundsätzlich zu beachten, dass die Wachstumsfähigkeit adulter Zellen bei weitem geringer ist als die embryonaler Zellen (WRBA und KALB (53)). Es ist also das vorliegende Ergebnis nicht mit absoluter Sicherheit zu bewerten. Die Nebennieren von Rattenembryonen erwiesen sich jedoch als derartig klein, dass an eine Präparation nicht gedacht werden konnte. Bei der verwendeten Nebenniere bemühten wir uns weitgehend die Rinde zu verwenden.

5) Die Wirkung von Nabelschnurserum unter verschiedenen Bedingungen auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenorgane in der Uhrglasmethode

Untersucht wurde die Wirkung des Nabelschnurserums von Humanplacenten, das aus höchstens 8 Stunden nach der Geburt im Kühlschrank aufbewahrten Placenten stammte. Sofort nach der Geburt wurde die Nabelschnur abgebunden, um ein Auslaufen des Blutes zu verhindern. Das Serum wurde auf die Art gewonnen, dass die Placenta mit der embryonalen Seite nach unten auf eine Glasplatte gelegt wurde, die auf einem Ständer ruhte, und die in ihrer Mitte eine kreisrunde Öffnung für den Durchtritt der Nabelschnur aufwies. Sodann liess man nach Aufbinden der Nabelschnur das Blut in einen daruntergestellten, sterilen Erlenmeyerkolben abtropfen. Es konnten auf diese Weise etwa 10 ccm Blut gewonnen werden, das 20 Minuten lang bei vollen Touren zentrifugiert wurde. Über den Ständer und die Placenta stellte man ein Plastikzelt, um die Sterilität des Blutes zu gewährleisten.

Verwendet wurde als Testsubstanz natives, gekochtes, filtriertes und für längere Zeit einmal im Kühlschrank, das andere Mal bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Nabelschnurserum.

Als Organe, bei denen die Wirkung geprüft wurde, fanden embryonale Lebern, Nieren und Herzen Verwendung.

- a) Die Wirkung nativen Nabelschnurserums von Humanplacenten auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenlebern in der Uhrglasmethode

Vergleichsweise wurde im folgenden Falle die Wirkung von Extrakt aus Rattenplacenten mit untersucht. Diese wurden im Potter-Elvehjem-Homogenisator zerrieben und derartig aufgeschlämmt, dass auf 100 g Placenta 33 g steriles, destilliertes Wasser kamen (Verd. Verh. also 3 : 1). Bei Tabelle 27 wurde native Rattenplacenta verwendet, bei Tabelle 28 handelte es sich um gekochte Placenta. In letzterem Falle wurde das 3 : 1 verdünnte Homogenisat 15 Minuten im Wasserbad gekocht, darauf erneut für 5 Minuten homogenisiert. Es erwies sich als notwendig, nach dem Aufkochen des Homogenisats dieses nochmals zu verdünnen; die Endkonzentration Placentaextrakt: H_2O betrug 2 : 1.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum bzw. Placentaextrakt + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32} (100 $\mu C/ml$)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P_{32}

Die Abkürzungen der folgenden 2 Tabellen bedeuten:

P = Kulturen mit Placentaextrakt

N = Kulturen mit Nabelschnurserum

Ko = Kontrollkulturen

TABELLE 27

Leberzellen

P_1	59	N_1	260	Ko_1	189	<u>Nabelschnurserum und nativer Rattenplacentenextrakt</u>
P_2	48	N_2	208	Ko_2	175	
P_3	34	N_3	173	Ko_3	82	Zahlen = Impulse/Min. E = Mittelwert aller gemessenen Impulse
P_4	37	N_4	145	Ko_4	46	
P_5	34	N_5	122	Ko_5	141	
P_6	41	N_6	134	Ko_6	126	
E = 42		E = 174		E = 126		
- 300 %		+ 38 %				

TABELLE 28

Leberzellen

P ₁	70	N ₁	75	Ko ₁	108	<u>Nabelschnurserum und gekochter Rattenplacentenextrakt</u>
P ₂	52	N ₂	149	Ko ₂	57	
P ₃	54	N ₃	216	Ko ₃	64	
P ₄	111	N ₄	107	Ko ₄	92	
P ₅	48	N ₅	122	Ko ₅	99	
P ₆	65	N ₆	210	Ko ₆	126	
P ₇	80	N ₇	120	Ko ₇	57	
E =	68	E =	142	E =	86	
- 27 %		+ 65 %				

Beide Tabellen zeigen eine eindeutige stoffwechselsteigernde Wirkung des Nabelschnurserums auf die Gewebekulturen; der native Placentaextrakt zeigt eine hochgradig depressive, der gekochte Extrakt eine geringere hemmende Wirkung.

b) Die Wirkung filtrierten Nabelschnurserums in nativem und gekochtem Zustand auf die Phosphataufnahme von embryonalen Leberzellen in der Uhrglasmethode

Hierbei wurde das auf die beschriebene Weise gewonnene Nabelschnurserum mit Stickstoff im Überdruck durch ein feinporiges Filter durchgetrieben.

Ein Teil des filtrierten Serums wurde 15 Minuten im Wasserbad gekocht. Es entstand eine feste weissliche Masse, diese wurde im Verhältnis 3 : 1 mit sterilem destilliertem Wasser verdünnt und 5 Minuten homogenisiert. Das Homogenisat wurde sodann 1/2 Stunde bei vollen Touren zentrifugiert. Der Überstand diente als Testsubstanz.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum in nativem bzw. gekochtem Zustand + 2 Tr. Embryonaleextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)
Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonaleextrakt + 1 Tr. P₃₂

Die Abkürzungen der folgenden Tabelle bedeuten:

F = Kulturen mit nativem, filtrierten Nabelschnurserum
G = Kulturen mit filtriertem, gekochten Nabelschnurserum
Ko = Kontrollkulturen
E = Mittelwert aller gemessenen Impulse/Minute

TABELLE 29

Leberzellen

F ₁	265	G ₁	358	Ko ₁	174
F ₂	276	G ₂	254	Ko ₂	170
F ₃	283	G ₃	323	Ko ₃	196
F ₄	207	G ₄	215	Ko ₄	139
F ₅	216	G ₅	225	Ko ₅	184
F ₆	200	G ₆	303	Ko ₆	158
F ₇	209	G ₇	306	Ko ₇	178
E = 236		E = 283		E = 171	
+ 38 %		+ 65 %			

Zahlen = Impulse/Min.

Somit zeigt das gekochte Serum eine Stoffwechselsteigerung von + 65 %, das native, filtrierte Serum eine Steigerung von + 38 %.

c) Die Wirkung von mazeriertem Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenlebern und Nieren in der Uhrglasmethode

Tabelle 30 zeigt die Wirkung von Nabelschnurserum, das 1 Tag bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurde. Vergleichsweise wurde frisches, nicht aufbewahrtes Nabelschnurserum mit untersucht. Tabelle 31 und 32 zeigen die Wirkung von Nabelschnurserum, das einmal im Kühlschrank, das andere Mal bei Zimmertemperatur für 2 Tage aufbewahrt wurde.

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum (nativ bzw. verschieden lang mazeriert) + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 μ C/ml)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 30

Leberzellen

S ₁	2326	SW ₁	2016	Ko ₁	1910
S ₂	3103	SW ₂	1974	Ko ₂	2007
S ₃	2236	SW ₃	1674	Ko ₃	1758
S ₄	2068	SW ₄	1593	Ko ₄	1881
S ₅	2340	SW ₅	1962	Ko ₅	1513
S ₆	2278	SW ₆	1860	Ko ₆	2021
E = 2391		E = 1846		E = 1848	
+ 29 %		+ 0 %			

Zahlen = Impulse/Min.

Die Buchstaben bedeuten:

S = Kulturen mit nativem Nabelschnurserum

SW = Kulturen mit 1 Tag bei Zimmertemperatur aufbewahrtem Serum

TABELLE 31

Leberzellen

SK ₁	2920	SW ₁	1252	Ko ₁	2858	<u>SK = Kulturen mit 2 Tage</u> <u>lang im Kühlschrank aufbe-</u> <u>bewahrtem Serum</u> <u>SW = Kulturen mit 2 Tage</u> <u>lang bei Zimmertemperatur</u> <u>aufbewahrtem Serum</u>
SK ₂	2454	SW ₂	1552	Ko ₂	2759	
SK ₃	2960	SW ₃	2393	Ko ₃	2525	
SK ₄	3012	SW ₄	1098	Ko ₄	2150	
SK ₅	2583	SW ₅	2689	Ko ₅	2663	
SK ₆	2638	SW ₆	1497	Ko ₆	1644	
E = 2761		E = 1747		E = 2449		
+ 12 %		- 40 %				

TABELLE 32

Nierenzellen

SK ₁	2675	Ko ₁	1949	SK = Kulturen mit 2 Tage lang im Kühlschrank aufbewahrtem Serum Ko = Kontrollkulturen
SK ₂	2786	Ko ₂	2814	
SK ₃	2708	Ko ₃	1749	
SK ₄	2532	Ko ₄	1490	
E = 2675		E = 2000		
+ 33 %				

Der stoffwechselsteigernde Einfluss des Nabelschnurserums blieb also bei Aufbewahrung desselben im Kühlschrank bestehen, er ging jedoch verloren, wenn man das Serum bei Zimmertemperatur stehen liess. Bemerkenswert ist, dass für 1 Tag bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Serum ohne Einfluss auf den Stoffwechsel der Organkulturen blieb, während man unter gleichen Bedingungen bei 2 Tage lang aufbewahrtem Serum einen stark depressiven Effekt auf die Phosphataufnahme beobachten konnte.

d) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme embryonaler Rattenherzen in der Uhrglasmethode

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum nativ + 2 Tr.

Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 33

Herzzellen

TK ₁	232	Ko ₁	109
TK ₂	276	Ko ₂	157
TK ₃	233	Ko ₃	131
TK ₄	251	Ko ₄	132
TK ₅	172	Ko ₅	142
TK ₆	185	Ko ₅	137
E = 450		E = 269	

+ 67 %

Zahlen = Impulse/Min.

Es spricht also auch der embryonale Herzmuskel gut auf stoffwechselsteigernde Substanzen an (Steigerung von + 67 %), obwohl nach Untersuchungen von WRBA und KALB (54) die Vitalität des embryonalen Herzmuskels gegenüber den anderen embryonalen Organen deutlich geringer ist.

6) Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme von Tumoren und embryonalen Organen in der Uhrglasmethode

In Tabelle 34 und 35 wurde zunächst die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme durch das Walker-Carcinom und das Yoshida-Sarkom untersucht, wobei vergleichsweise frischer Extrakt von Humanplacenten mit getestet wurde. Die Verdünnung dieses Extraktes betrug 3 : 1 (3 Teile Placenta auf 1 Teil Wasser).

In den darauffolgenden Tabellen wurde die Wirkung von Nabelschnurserum auf den Stoffwechsel von Walker-Carcinomen und embryonalen Lebern miteinander verglichen. Dabei wurde ausserdem Menschen Serum, das von einem 26-jährigen jungen Mann stammte, als 2. Testsubstanz verwendet. Es sollte damit herausgefunden werden, ob dem Nabelschnurserum allein eine stoffwechselsteigernde Wirkung zukommt, oder ob sich allgemein im Serum stoffwechselsteigernde Substanzen befinden.

a) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Phosphataufnahme des Walker-Carcinoms und des Yoshida-Sarkoms

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum bzw. Placentalextrakt + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 μ C/ml)

Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 34

Walker-Carcinom

S ₁	2901	E ₁	601	Ko ₁	1896
S ₂	2265	E ₂	969	Ko ₂	821
S ₃	3068	E ₃	638	Ko ₃	766
S ₄	2550	E ₄	553	Ko ₄	659
S ₅	2926	E ₅	563	Ko ₅	1221
S ₆	2806	E ₆	573	Ko ₆	1569
S ₇	2177	E ₇	396	Ko ₇	553
E = 2670		E = 613		E = 1067	
+ 150 %		- 73 %			

Die Abkürzungen bedeuten:

S = Kulturen mit Nabelschnurserum

E = Kulturen mit Placentaextrakt

Ko = Kontrollkulturen

Es ergibt sich also aus diesen Tabellen, dass sowohl das Walker-Carcinom als auch das Yoshida-Sarkom durch Nabelschnurserum zu gesteigertem Stoffwechsel angeregt werden, der um etwa 150 % höher liegt als der der Kontrollkulturen. Die Kulturen, die mit Placentaextrakt versetzt wurden, zeigten einen der Konzentration entsprechenden, depressiven Effekt (s. Diskussion).

b) Die Wirkung von Nabelschnurserum und Menschenserum auf die Phosphataufnahme von Walker-Carcinom und embryonalen Lebern

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum bzw. Menschenserum (s. o.) + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂ (100 µC/ml)
Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. P₃₂

TABELLE 36

Walker-Tumor

S ₁	1117	M ₁	843	Ko ₁	758
S ₂	1519	M ₂	806	Ko ₂	516
S ₃	1295	M ₃	906	Ko ₃	570
S ₄	1637	M ₄	981	Ko ₄	795
S ₅	1518	M ₅	890	Ko ₅	587
S ₆	1470	M ₆	778	Ko ₆	791
E = 1426		E = 867		E = 653	
+ 133 %		+ 35 %			

TABELLE 35

Yoshida-Sarkom

S ₁	1469	E ₁	579	Ko ₁	755
S ₂	1338	E ₂	405	Ko ₂	1043
S ₃	1284	E ₃	451	Ko ₃	810
S ₄	1288	E ₄	468	Ko ₄	724
S ₅	1319	E ₅	446	Ko ₅	711
S ₆	1287	E ₆	391	Ko ₆	845
S ₇	1158	E ₇	333	Ko ₇	752
E = 1306		E = 439		E = 791	
+ 165 %		- 80 %			

TABELLE 37

Embryonale Leber

S ₁	2332	M ₁	1286	Ko ₁	1273
S ₂	1794	M ₂	1423	Ko ₂	1415
S ₃	1623	M ₃	1262	Ko ₃	1195
S ₄	2061	M ₄	1498	Ko ₄	1073
S ₅	1801	M ₅	1636	Ko ₅	1002
S ₆	1768	M ₆	1402	Ko ₆	1193
E = 1896		E = 1417		E = 1191	
+ 59 %		+ 18 %			

TABELLE 38

Walker-Tumor

S ₁	1681	M ₁	1026	Ko ₁	844
S ₂	1890	M ₂	862	Ko ₂	702
S ₃	1787	M ₃	1179	Ko ₃	721
S ₄	1448	M ₄	1300	Ko ₄	776
S ₅	1501	M ₅	1086	Ko ₅	690
S ₆	1630	M ₆	1160	Ko ₆	636
E = 1656		E = 1102		E = 734	
+ 125 %		+ 50 %			

TABELLE 39

Embryonale Leber

S ₁	2632	M ₁	2174	Ko ₁	1109
S ₂	2420	M ₂	2149	Ko ₂	1490
S ₃	2075	M ₃	2071	Ko ₃	1627
S ₄	2906	M ₄	2328	Ko ₄	1558
S ₅	2599	M ₅	1979	Ko ₅	1460
S ₆	2490	M ₆	2091	Ko ₆	1761
E = 2520		E = 2132		E = 1500	
+ 68 %		+ 42 %			

Die Buchstaben der Tabellen 36 - 39 bedeuten:

S = Kulturen mit Nabelschnurserum

M = Kulturen mit Menschenserum

Ko = Kontrollkulturen

E = Mittelwert aller gemessenen Impulse/Min.

Es ist bei den vorliegenden Versuchen zu bemerken, dass die Gewebekulturen der Tabellen 36 und 37 und der Tabellen 38 und 39 unter streng identischen Bedingungen angesetzt wurden (Ansatz der Kulturen zur gleichen Zeit, genau gleich lange Einwirkungszeit der Testsubstanz, Messung der Aktivität zur gleichen Zeit).

Es fand sich als interessantes Ergebnis, dass erstens auch bei Zusatz von Menschenserum ein stoffwechselsteigernder Effekt nachzuweisen ist, der jedoch bei weitem nicht so ausgeprägt ist wie beim Retroplacentarserum. Zum zweiten ist bemerkenswert, dass die Stoffwechselsteigerung durch Nabelschnurserum beim Walker-Carcinom etwa um das doppelte höher ist als bei den embryonalen Leberkulturen, dass jedoch dabei die absolute Höhe der Impulszahlen und zwar sowohl der Kontroll- als auch der Testkulturen bei der embryonalen Leber wesentlich höher liegt als beim Walker-Tumor, was zu dem Schluss führen könnte, dass unter allgemeinen Gesichtspunkten betrachtet, die Stoffwechselaktivität der embryonalen Zelle geringer ist als die der Tumorzelle. Wir kamen jedoch zu einer anderen Deutung, auf die in der Diskussion näher eingegangen werden wird.

7) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Aufnahme von radioaktiv-markiertem ADENIN durch embryonale Lebern und Nieren in der Uhrglasmethode

In Teil a der folgenden Versuchsreihe wurde zunächst festgestellt, inwieweit radioaktiv markiertes Adenin aktiv von der Zellkultur aus dem Nährmedium aufgenommen wird. Es wurden dabei als Kontrollen einmal hitzedenaturierte Gewebstückchen verwendet, die für 1 Minute in kochendes Wasser gegeben wurden, zum

zweiten wurden hinsichtlich der Grösse möglichst genau den Gewebekulturstückchen entsprechende, aus dem Nährboden herausgeschnittene Teile zur vergleichenden Messung der Aktivität verwendet.

In Teil b wurde die Wirkung von nativem Nabelschnurserum auf die Adeninaufnahme embryonaler Lebern und Nieren festgestellt.

In Teil c wurde zusätzlich zum Nabelschnurserum die Wirkung von Butazolidin in einer Endkonzentration von 0,03 % untersucht, das in geringer Konzentration eine stoffwechselsteigernde Wirkung aufweisen soll (PULVER, EXER und HERMANN 1956 - 42). (Die angeführten Autoren beschreiben eine Aktivierung der Atmung von Lebermitochondrien).

a) Die Aufnahme von radioaktiv markiertem Adenin durch embryonale Lebern in der Uhrglasmethode

Nährboden: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. C₁₄ markiertes Adenin

Die Abkürzungen bedeuten:

- L = embryonale Leberzellen
- D = hitzedenaturierte Leberstückchen
- C = Kontrollstückchen des Nährbodens

TABELLE 40

L ₁	110	D ₁	35	C ₁	35	
L ₂	303	D ₂	101	C ₂	34	
L ₃	58	D ₃	35	C ₃	29	
L ₄	50	D ₄	33	C ₄	38	Zahlen = Impulse/Min.
L ₅	40	D ₅	21	C ₅	28	
L ₆	50	D ₆	47	C ₆	31	
L ₇	41	D ₇	31	C ₇	25	
E =	93	E =	43	E =	31	

Damit zeigt sich sehr deutlich, dass auch Adenin, ebenso wie radioaktiv markiertes Phosphat, aktiv von der Zellkultur aufgenommen wird.

b) Die Wirkung von Nabelschnurserum auf die Aufnahme von C_{14} markiertem Adenin durch embryonale Lebern und Nieren in der Uhrglasmethode

Nährboden: Testkulturen: 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. C_{14} markiertes Adenin
Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin

TABELLE 41

Leberzellen

TK ₁	390	Ko ₁	198
TK ₂	390	Ko ₂	405
TK ₃	464	Ko ₃	256
TK ₄	367	Ko ₄	187
TK ₅	407	Ko ₅	240
TK ₆	339	Ko ₆	150
E = 393		E = 239	
+ 64 %			

TABELLE 42

Nierenzellen

TK ₁	151	Ko ₁	85
TK ₂	264	Ko ₂	135
TK ₃	116	Ko ₃	62
TK ₄	212	Ko ₄	90
TK ₅	104	Ko ₅	203
TK ₆	210	Ko ₆	96
E = 176		E = 111	
+ 58 %			

Es zeigte sich also, dass auch die Adenin-Aufnahme durch Nabelschnurserum gesteigert wird, die Aktivitätsimpulse der Testkulturen lagen gegenüber den Kontrollen um etwa 60 % höher. Der Betrag der Stoffwechselaktivierung lag also in der gleichen Größenordnung wie bei der Phosphataufnahme.

c) Die Wirkung von Nabelschnurserum und Butazolidin auf die Adeninaufnahme embryonaler Leberzellen

Nährboden: Testkultur (S): 3 Tr. Plasma + 3 Tr. natives Nabelschnurserum + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin C_{14}
Testkulturen (B): 3 Tr. Plasma + 3 Tr. Nabelschnurserum + 1 Tr. Butazolidin + 1 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin C_{14}
Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 5 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin C_{14}

TABELLE 43

Leberzellen

S ₁	4106	B ₁	5112	Ko ₁	2137
S ₂	4847	B ₂	4682	Ko ₂	2955
S ₃	4284	B ₃	4439	Ko ₃	3289
S ₄	4556	B ₄	4601	Ko ₄	3077
S ₅	5042	B ₅	3852	Ko ₅	2366
S ₆	4390	B ₆	3620	Ko ₆	3292
E = 4537		E = 4384		E = 2852	
+ 59 %		+ 53 %			

Zahlen = Impulse/Min.

Die Steigerung der Adenin-Aufnahme durch Butazolidin zusammen mit Nabelschnurserum lag also in der gleichen Grössenordnung wie bei Nabelschnurserum allein.

8) Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Nabelschnurserum und Menschenserum auf die ADENIN-Aufnahme embryonaler Lebern und Tumoren in der Uhrglasmethode

Als Tumor fand in dieser Versuchsreihe das Yoshida-Sarkom Anwendung. Das Menschenserum stammte von einem 26-jährigen Mann.

Nährboden: Testkulturen (S): 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Nabelschnurserum + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin C₁₄
 Testkulturen (M): 3 Tr. Plasma + 2 Tr. Menschenserum + 2 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin C₁₄
 Kontrollkulturen: 3 Tr. Plasma + 4 Tr. Embryonalextrakt + 1 Tr. Adenin C₁₄

TABELLE 44

Yoshida-Sarkom

S ₁	109	M ₁	38	Ko ₁	29
S ₂	63	M ₂	25	Ko ₂	33
S ₃	109	M ₃	45	Ko ₃	31
S ₄	92	M ₄	56	Ko ₄	39
S ₅	101	M ₅	65	Ko ₅	21
S ₆	65	M ₆	44	Ko ₆	16
E = 89		E = 45		E = 28	
+ 217 %		+ 60 %			

TABELLE 45

Leberzellen (embryonal)

S ₁	313	M ₁	155	Ko ₁	108
S ₂	274	M ₂	222	Ko ₂	106
S ₃	291	M ₃	146	Ko ₃	118
S ₄	241	M ₄	201	Ko ₄	164
S ₅	297	M ₅	187	Ko ₅	108
E = 283		E = 182		E = 120	
+ 135 %		+ 51 %			

Es zeigte sich also bei der Adenin- Aufnahme ein ähnlicher Befund wie bei der Phosphataufnahme, auch hier lagen die Aktivitätsimpulse der Lebern deutlich höher (um etwa das 3-fache) als die der Tumoren. Ferner ergab sich, dass der Betrag der Stoffwechselsteigerung durch Nabelschnurserum bei den Tumoren bedeutend höher lag als bei den embryonalen Lebern (217 %; 135 %). Die stoffwechselaktivierende Wirkung von Menschenserum lag dabei bei beiden Kulturar-ten in der gleichen Grössenordnung.

DISKUSSION DER VERSUCHSERGEBNISSE

In den einleitenden Versuchen konnte zunächst festgestellt werden, dass explantierte Organe ausserhalb des Körpers Stoffwechsel zeigen und aus dem Nährboden Substanz aufnehmen, wenn sie sich in einem geeigneten Nährmedium befinden, das in unserem Falle aus Hühnerplasma und Embryonalextrakt bestand. Die im Vergleich zum Nährboden sehr hohen Aktivitätsimpulse zeigen die grosse Vitalität embryonaler Organe.

Der Gedanke der Explantatzüchtung geht auf CARREL (12) zurück, der kleinste Stückchen embryonaler Hühnerherzen in Plasma weiterzüchtete.

Es konnte sodann gezeigt werden, dass verschiedene Organe in der Lage sind, in vitro Phosphat aufzunehmen und damit Stoffwechselaktivität beweisen; so wurde Phosphat durch Fibroblasten von embryonalen Hühnerherzen und Beinen sowie von Lebern, Nieren und Herzen embryonaler Ratten aufgenommen. Auch das Walker-Carcinom und das Yoshida-Sarkom reicherten deutlich Phosphat an.

Sodann wurde Extrakt von menschlichen und Rattenplacenten untersucht, der im Verhältnis 10 : 1 bzw. 3 : 1 (auf 10 bzw. 3 Teile Placenta kamen 1 Teil steriles, destilliertes Wasser) verdünnt wurde. Die Untersuchung fand unter verschiedenen Bedingungen statt. Es ergab sich sowohl bei den Versuchen, in denen der Extrakt sofort nach der Herstellung verwendet wurde, als auch in den Fällen, wo er in einem Falle 1 Tag, in einem anderen Fall 12 Tage lang im Kühlschrank aufbewahrt wurde, ein deutlich depressiver Effekt auf den Stoffwechsel der Organ-kulturen. Der gleiche Befund zeigte sich bei einem Versuch, bei welchem pulveri-sierter Extrakt von Humanplacenten zur Verwendung kam. Der stoffwechselhem-mende Effekt war nicht nur bei Fibroblastenkulturen zu beobachten, sondern er fand sich genau so bei embryonalen Lebern und Nieren. Die Stoffwechselhem-mung in Prozenten ausgedrückt betrug in hochgradigen Fällen bis - 427 %, wie bei den Fibroblasten (Extraktverdünnung 10 : 1), bei den embryonalen Lebern be-trug sie - 95 % (Extraktverdünnung 3 : 1). Gegen die Vermutung, dass diese Stoff-wechselhemmung ausschliesslich durch eine Beteiligung des Homogenisats am Stoffwechsel bedingt sei, sprach die Tatsache, dass auch bei Denaturierung des Extraktes durch Kochen eine Depression festzustellen war, die z.B. bei Extrakt von Rattenplacenten - 27 % betrug. Wenn hierbei der Betrag der Stoffwechselhem-

mung nicht so ausgeprägt ist wie bei den mit nativem Extrakt versetzten Kulturen, so ist dies wohl vor allem darauf zurückzuführen, dass die Endkonzentration des Homogenisats im letzteren Falle nur 2 : 1 betrug. Es soll darauf später noch genauer eingegangen werden. Grundsätzlich ist festzustellen, dass auch kleinste Zellpartikel - und darum handelt es sich bei einem Homogenat - noch Stoffwechselaktivität aufweisen. Es besteht also somit eine Konkurrenz im Stoffwechselgeschehen zwischen Organkultur und Homogenat. Bei Hitzedenaturierung des Extraktes verliert dieser jedoch seine Lebensfähigkeit, d. h. seine Stoffwechselaktivität. Bemerkenswert ist ferner, dass bei 24-stündiger Einwirkungszeit von Humanplacentenextrakt auf Fibroblasten die Depression - 40 % betrug, um nach 48-stündiger Einwirkungszeit auf - 300 % anzusteigen. Die Versuche mit mazeriertem Extrakt zeigten eine Verminderung der depressiven Wirkung bei Verwendung von Extrakt, der für mehrere Tage aufbewahrt wurde.

In der folgenden Tabelle sei die Hemmung des Stoffwechsels in Prozenten an Hand der wichtigsten Versuche aufgeführt.

Die depressive Stoffwechselwirkung von Placentaextrakt unter verschiedenen Bedingungen

FIBROBLASTEN (Verdünnung 10 : 1)

Pulverisierter Extrakt von Humanplacenten	- 43 %
Frischer Extrakt von Humanplacenten	- 427 %
Frischer Extrakt bei 24-stündiger Einwirkungszeit	- 40 %
Frischer Extrakt bei 48-stündiger Einwirkungszeit	- 300 %

EMBRYONALE RATTENORGANE (Verdünnung 3 : 1)

Frischer Extrakt von Humanplacenten auf embryonale Rattenlebern	- 95 %
Frischer Extrakt von Humanplacenten auf embryonale Rattennieren	- 78 %
Gekochter Humanplacentenextrakt auf Leber	- 4 %
Gekochter Humanplacentenextrakt auf Nieren	- 14 %
Gekochter Rattenplacentenextrakt auf Leber	- 27 %
1 Tag mazerierter Extrakt von Humanplacenten	- 443 %
12 Tage mazerierter Extrakt von Humanplacenten	- 249 %

An pharmazeutisch hergestellten Präparaten hatten wir insgesamt 4 untersucht, nämlich Inplacen, ferner ein Präparat der Lentia GmbH, sowie Regeneresen und Siccacell von Tierplacenten. Über die Zusammensetzung des Inplacen, das in flüssiger Form im Handel ist, sowie über die Herstellung des pulverisierten Präparates der Lentia ist uns nichts bekannt. Auf den Stoffwechsel der Fibroblasten liess das Inplacen, das wir in diesem Falle im Verhältnis 1 : 1 mit Hanks Lösung verdünnt hatten, eine Stoffwechselsteigerung von + 25 % erkennen. Wir hatten ferner die Einwirkung von Inplacen auf embryonale Rattenlebern und Nieren untersucht, wobei das Inplacen unverdünnt blieb. In diesem Falle stellten wir eine Depression fest, die bei den Lebern - 155 % betrug.

Das Präparat der Lentia zeigte als 1 %ige Suspension auf den Stoffwechsel von Leberzellen eine geringe Steigerung von + 12 %, die 10 %ige Lösung wies eine Depression von - 44 % auf.

Regeneresen liess eine Neigung zur Stoffwechselhemmung erkennen. Jedoch lässt die geringe Anzahl der Versuchskulturen, sowie die schwankenden Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen keine sichere Deutung zu. Wie bereits angeführt, stammt die Regeneresen Therapie der Praxis von DYCKERHOFF, der annimmt, dass das wirksame Prinzip fetaler und junger Säugetierzellen auf Wirkstoffen beruht, die wahrscheinlich in die Klasse der Fermente einzuordnen sind. Er hält für das Fortbestehen der Gewebe die Nachbildung einzelner Proteine aus Aminosäuren für notwendig. Als "Regeneresen" bezeichnet er diejenigen aufbauenden Fermente, die diese Proteinsynthese bewerkstelligen. Es soll sich dabei um Cofermente handeln. Die Regeneresen liegen in steriler, wässriger Lösung vor, es sind bei ihnen Zellbegleitstoffe weitgehend eliminiert, so dass sie nach Angaben der Herstellerfirma höchstens 5 mg Protein pro Ampulle enthalten.

Bei den Präparaten von Placenta-Siccacell, die von Schafsfeten stammten, war teilweise eine hochgradige Depression zu erkennen.

Bei Siccacell handelt es sich um Trockenzellen, die beim Trocknen gleichzeitig gefroren werden. Nach NEUMANN (39) heisst Gefriertrocknung Wasserentzug aus gefrorenem Material. Das Trocknen hat den Sinn der Erhaltung der biologischen Aktivität. Die tiefe Temperatur während der Trocknung verhindert Veränderungen während des kritischen Vorganges des Flüssigkeitsentzuges. GRABER (26) konnte zeigen, dass Trockenzellen nach vorsichtigem Wiederauftauen einen gestaltlich unveränderten Zustand aufweisen. Trockenzellgewebe kann jedoch nicht mehr als lebensfähig angesehen werden. PISCHINGER's (40, 41) Versuche, Trockenzellen in Kulturen zum Wachstum zu bringen, zeigten keinen Erfolg. Inwieweit die Eiweisskörper bei der Gefriertrocknung denaturiert werden, ist noch nicht sicher beantwortet worden.

Es wurde im Laufe des bisher Beschriebenen bereits einmal angedeutet, dass eine Verminderung der Konzentration des Placentaextraktes zu einer Verringerung des depressiven Effektes führte. Wie bereits erwähnt, war bei einer Konzentration von 3 : 1 (Placenta: Hanks Lösung) eine depressive Wirkung zu beobachten, die maximal Werte von etwa - 400 % erreichte. Bei gekochtem Extrakt von Rattenplacenten betrug die Konzentration 2 : 1, die Stoffwechselhemmung belief sich hierbei auf - 27 %.

Aus dieser Tatsache schlossen wir, dass möglicherweise eine hohe Konzentration des Extraktes zu einer derartigen Intensivierung des Zellstoffwechsels führe, dass es zur Erschöpfung und folgender Degeneration der Zellen komme, d.h. dass deren Adaptationsmöglichkeiten überschritten wurden. Wir nahmen also an, dass im Extrakt stoffwechselsteigernde Substanzen vorhanden seien. Es lag somit der Gedanke nahe, die Konzentration des Extraktes weiterhin zu vermindern und damit einen Konzentrationsbereich zu finden, der innerhalb der Adaptationsmöglichkeiten der Organkulturen für erhöhte Stoffwechselleistung liegt.

Es ergab sich nun als interessantes Ergebnis eines Versuches (Tabelle 25, Seite 30), bei dem wir 3 verschiedene Konzentrationen wählten, folgende Tatsache: im Verhältnis 1 : 5 (1 Teil Placenta auf 5 Teile Hanks Lösung) verdünnter Extrakt von Humanplacenten (in nativem Zustand) zeigte auf den Stoffwechsel von embryonalen Leberzellen eine Steigerung von + 57 %. Dieses Verdünnungsverhältnis ist offensichtlich optimal, denn eine höhergradige Verdünnung von 1 : 10 ergab eine Verminderung des Effektes auf + 18 %. Auf der anderen Seite ergab eine Erhöhung der Konzentration des Extraktes (Verdünnungsverhältnis 1 : 1) ebenfalls eine Verminderung des stoffwechselsteigernden Effektes auf + 11 %. Für die Tatsache, dass eine bestimmte Konzentration der wirksamen Substanz eine Rolle spielt, sprachen auch die Ergebnisse einiger Versuche mit pharmazeutischen Präparaten. So hatte sich Inplacen als stoffwechselsteigernd erwiesen (+ 25 %) wenn man es im Verhältnis 1 : 1 mit Hanks Lösung verdünnte, dagegen war eine Hemmung des Stoffwechsels zu beobachten (- 155 %), wenn man es den Kulturen unverdünnt zusetzte. Schliesslich zeigte auch das Präparat der Lentia GmbH in 1 %iger Lösung eine Steigerung von + 12 %, in 10 %iger Lösung eine Hemmung von - 44 %. Es ist also offensichtlich ein stoffwechselsteigernder Faktor in der Placenta erhalten, der jedoch nur in bestimmter Konzentration in dieser Richtung wirksam ist.

Es soll im folgenden versucht werden darzustellen, inwieweit eine Übersteigerung des Stoffwechsels ins Gegenteil umschlagen und zur Hemmung werden kann. Bei der Beschreibung der Versuchsergebnisse hatten wir darauf hingewiesen, dass Fibroblastenkulturen, die mit Placentaextrakt, der im Verhältnis 10 : 1 verdünnt wurden, eine hochgradige degenerative Verfettung erkennen liessen. Ausserdem war der periphere Wachstumssaum, der bei Fibroblastenkulturen sehr gut unter dem Mikroskop zu beobachten ist, sehr gering ausgebildet. Bevor wir zu einer Erklärung dieser degenerativen Verfettung kommen, scheint es nötig, einige Begriffe zu erläutern. So möchten wir zuerst den Begriff der Degeneration definieren. Degeneration ist nach LETTERER (35) die durch Störung eines oder mehrerer Lebensvorgänge erwirkte Wandlung der Zellstruktur in gestaltlicher und chemischer Hinsicht, die unabdingbar eine Funktionsminderung nach sich zieht. Bereits VIRCHOW hatte als Hauptprinzip der Degeneration die Leistungsminderung und nicht die Irreversibilität des degenerativen Vorganges herausgestrichen. Im Sinne LETTERERS ist Degeneration ein übergeordneter Begriff, der alle Änderungen umfasst, welche die Zelle in gestaltlicher, chemischer und funktioneller Hinsicht betreffen. Als speziellen Begriff bezeichnet er Degeneration auf dem Gebiet des Stoffwechsels als Dystrophien, die nach ihm "anabiotisch" oder "katabiotisch" verlaufen können. Unter Anabiose sei dabei die Steigerung eines Stoffwechselgeschehens verstanden, entsprechend bedeutet Katabiose Hemmung. LETTERER ist nun der Ansicht, dass die Anabiose, die wie gesagt Stoffwechselsteigerung bedeutet, durch Übersteigerung in das Gegenteil umschlagen und zur Katabiose werden kann. So hatte bereits VIRCHOW in dem gleichen Sinne von aktiven und passiven Lebensvorgängen gesprochen. Er hatte die Ansicht, dass sich bei über-

steigertem Stoffwechsel das Eiweiss des Protoplasmas in Fett verwandeln wurde, und sprach daher von fettiger Degeneration. Nach den heutigen Erkenntnissen darf man annehmen, dass zwischen Aufnahme, Aufbau, Verbrauch und Abgabe von Fett für die Zelle ein Gleichgewichtszustand besteht, der es nicht zur Ansammlung wesentlicher Fettmengen im Protoplasma kommen lässt. Die eigentliche Arbeit der Zelle mit und an den Fettstoffen ist eine Leistung von Zellfermenten, die für Auf- und Abbau in einem fein abgestimmten Regulativ tätig sind. Der Fettverbrauch erstreckt sich auf Energiegewinnung, Stoffwandlung, Strukturauf- und -abbau.

Die heutigen Kenntnisse erlauben jedoch noch keine Schilderung, auf welchem Wege es infolge einer Übersteigerung des Stoffwechselgeschehens zur Degeneration kommt.

Jedenfalls scheint uns die Deutung der depressiven Wirkung von Placentaextrakt in hoher Konzentration im Sinne LETTERERS als "anabiotische Katabiose" geeignet. Es kommt also offenbar durch übermässige Beanspruchung der Zelltätigkeit im Sinne eines hochgradig gesteigerten Ablaufes der Stoffwechselvorgänge zur raschen Erschöpfung und folgenden Degeneration der Zelle. So erscheint nach dem oben gesagten das Ergebnis des in Tabelle 8, S. 22 beschriebenen Versuches verständlich, bei dem wir nativen Placentaextrakt (Verdünnungs-Verhältnis 10 : 1) einmal 24, ein anderes Mal 48 Stunden lang auf die Gewebekultur einwirken liessen. Es war dabei die Depression von - 40 % auf - 300 % heraufgegangen. Dies spricht dafür, dass die Intensivierung der Stoffwechselvorgänge derartig hochgradig ist, dass es in kürzester Zeit zur Degeneration der Zellen kommt.

Wenn sich in der Placenta ein stoffwechselsteigernder Faktor befindet, so liegt es nahe, im Retroplacentalserum ein ähnliches Prinzip zu vermuten. Tatsächlich gelang es uns, eine Aktivierung des Stoffwechsels von embryonalen Lebern und Nieren durch Nabelschnurserum nachzuweisen. Die Erhöhung des Stoffwechsels erreichte dabei Werte bis etwa 80 %. Auch der embryonale Herzmuskel liess eine Stoffwechselsteigerung von der gleichen Grössenordnung erkennen.

Bei allen bisherigen Versuchen wurde die Intensität der Stoffwechselprozesse mit Hilfe von radioaktiv markiertem Phosphat gemessen. Die allgemeine Stellung der Phosphate im Zellstoffwechsel wurde in der Problematik eingehend geschildert. Es wurde auch darauf hingewiesen, dass Adenin bei der Proteinsynthese eine besondere Rolle spielt, und dass somit die Aufnahme von radioaktiv markiertem Adenin ein genauerer Indikator für Wachstumsprozesse der Zelle sein könnte. Voraussetzung zur exakten Erfassung von Wachstumsvorgängen ist natürlich zum ersten, dass überhaupt radioaktiv markierte Adeninmoleküle in genügender Menge von der Gewebekultur aufgenommen werden, zum zweiten, dass bei der beschriebenen technischen Schwierigkeit (beschr. im Abschnitt Material und Methode) die Messung der Aktivität verwertbare Grössen liefert. Wir hatten deshalb ausser einem Ansatz von vitalen Zellkulturen bei einem Versuch als Kontrollen hitzedenaturierte Organstückchen verwendet, als weitere Kontrolle fanden Nährbodenstückchen Anwendung. Die Messung der Aktivität ergab durchaus verwert-

bare Ergebnisse, die Impulszahlen der "lebenden" Organstückchen lagen weit über den Werten der denaturierten Stückchen und den Werten von geronnenen Nährbodenteilen. Damit war erwiesen, dass auch Adenin, als Vorläufer der Nukleinsäuren, aktiv von der Organkultur aufgenommen wird.

Interessant war nun die Tatsache, dass Nabelschnurserum auf die Adeninaufnahme von embryonalen Lebern und Nieren ebenso fördernd einwirkte, wie auf die Phosphataufnahme. Auch die Adeninaufnahme wurde durch Nabelschnurserum gegenüber den Kontrollen um etwa 60 % gesteigert.

Um die Natur des stoffwechselsteigernden Faktors des Nabelschnurserums näher zu klassifizieren, untersuchten wir es unter verschiedenen Bedingungen. So gelang es uns nachzuweisen, dass das Serum beim Kochen nichts von seiner steigernden Wirkung einbüsst. Auch nach Filtrierung durch ein feinporiges Filter war der stoffwechselsteigernde Effekt erhalten. Auch nach Aufbewahrung des Nabelschnurserums im Kühlschrank für 1 bis 2 Tage konnte man noch eine Intensivierung der Stoffwechselprozesse nachweisen. Im Gegensatz dazu war jedoch bei Nabelschnurserum, das für 1 Tag bei Zimmertemperatur gehalten wurde, kein Einfluss auf embryonale Organkulturen mehr festzustellen, verwendete man 2 Tage lang bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Nabelschnurserum, so ergab sich sogar ein depressiver Effekt. Eine Deutung dieser hemmenden Wirkung ist im Rahmen unserer Versuche nicht möglich. Es sei nur darauf hingewiesen, dass sofort nach Entnahme eines Gewebes aus dem Gesamtorganismus autolytische Vorgänge einsetzen, falls das Gewebe nicht in ein geeignetes konservierendes Medium gebracht wird. Es ist eine Tatsache, dass diese autolytischen Vorgänge, die eine weitgehende Strukturänderung des Gewebes bedingen können, bei höheren Temperaturen beschleunigt ablaufen. Wir können jedoch an Hand unserer Versuche nicht nachweisen, ob sich dabei stoffwechselhemmende Faktoren bilden.

Zusammenfassend kann man sagen, dass sich im menschlichen Retroplacentalserum ein stoffwechselsteigernder Faktor befindet der bis 100° C hitzebeständig ist und offenbar niedermolekular ist. Nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur verliert er bereits nach 1 Tag seine Wirkung.

Sehr interessante Ergebnisse lieferten die vergleichenden Untersuchungen über die Wirkung von Nabelschnurserum auf den Stoffwechsel von Tumoren und embryonalen Organen. Es konnte dabei festgestellt werden, dass der Stoffwechsel der Tumoren wesentlich mehr angeregt wurde als der der embryonalen Organe. So ergaben sich sowohl beim Walker-Carcinom als auch beim Yoshida-Sarkom Stoffwechselsteigerungen bis etwa 160 %. Unter streng identischen Bedingungen wurden vergleichsweise embryonale Lebern mit untersucht, bei denen das Nabelschnurserum jedoch nur eine Steigerung bis etwa 60 % gegenüber den Kontrollen bewirkte. Bemerkenswert war ferner, dass beim Vergleich der Impulszahlen der Kontrollen und auch der Testkulturen die embryonale Leber Werte zeigte, die etwa das doppelte der Tumoren betrug. Auch Menschenserum, das von einem 26-jährigen jungen Mann stammte, erwies sich so-

wohl auf den Stoffwechsel der Tumoren als auch der embryonalen Lebern als steigend. Der Betrag der Stoffwechselsteigerung war jedoch dabei geringer, erreichte bei den Tumoren und bei den embryonalen Organen in diesem Falle gleichermassen + 50 %. Dieser Befund konnte sowohl bei der Phosphat- als auch bei der Adeninaufnahme erhoben werden. Um diese Befunde richtig deuten zu können, scheint es zunächst erforderlich zu sein, die Stoffwechselvorgänge embryonaler Zellen und von Tumoren genauer zu untersuchen. Die wesentliche Frage ist dabei, welche Unterschiede im Stoffwechseltyp der beiden Zellarten vorhanden sind. Gemeinsam ist jedenfalls sowohl den embryonalen als auch den Tumorzellen eine gegenüber der adulten Zelle sehr hohe Stoffwechselaktivität in Verbindung mit einem hohen Wachstumspotential. WARBURG (50) wies auf die Glykolyse als Grundvoraussetzung für das Wachstum hin. Er stellte bei normalen, ruhenden Zellen einen oxydativen Abbau der Kohlehydrate fest, wobei unter aeroben Bedingungen keine nennenswerte Milchsäurebildung stattfindet. Im Gegensatz hierzu zeigen maligne Zellen zwar Atmung, daneben aber auch, selbst bei Anwesenheit von Sauerstoff eine weitgehende Umwandlung der Glukose in Milchsäure. Embryonale Zellen liegen zwischen diesen beiden Extremen, sie zeigen den Stoffwechseltyp der aeroben Glykolyse, d. h. es findet bei ihnen zugleich Atmung und Glykolyse statt.

ZAMECNIK (57) konnte feststellen, dass Tumoren grosse Mengen an Glukose umsetzen. Es kommt aber dabei nicht nur zur Milchsäurebildung, sondern ein grosser Teil der Abbauprodukte der Glukosemoleküle wird zum Aufbau von Aminosäuren verwendet. Somit ergibt sich die Bedeutung der unvollständigen Oxydation für die Synthese von Zellbaustoffen. LETTRE (36) hält diesen Stoffwechseltyp für alle wachsenden Zellen als charakteristisch. Es sollen nach ihm alle wachsenden Zellen die Fähigkeit der aeroben Glykolyse besitzen.

Beim Kohlehydratabbau werden bestimmte Stoffe für die Synthese der zum Zellwachstum notwendigen Stoffe abgezweigt. Wahrscheinlich ist die Bildung von Milchsäure unter aeroben Bedingungen nur als äusserer Ausdruck der unvollständigen Oxydation zu bewerten, der für das Wachstum keine nennenswerte Bedeutung zukommen dürfte. So wurden die Befunde WARBURGS durch die Untersuchungsergebnisse von ZAMECNIK genauer spezifiziert.

Von verschiedenen Forschern wurde versucht, Besonderheiten hinsichtlich des Stoffwechsels und des Chemismus der Tumorzelle aufzudecken. Zusammenfassend wäre zu sagen, dass es für die Tumorzelle keinen spezifischen Stoffwechseltyp gibt. Wenn es bei der Krebszelle irgendwelche Veränderungen gegenüber der Normalzelle gibt, so sind diese wohl als Zeichen eines hochgradig gesteigerten Stoffwechsels anzusehen.

Es scheint also so zu sein, dass infolge einer Genmutation, die heute als wesentlich für die Entstehung eines malignen Tumors angesehen wird, die Intensität der Stoffwechselprozesse auf einen schnelleren Ablauf eingestellt wird. So ist vielleicht auch der Cytochromdefekt der Krebszelle (WARBURG (50)) als Folge dieser Genmutation aufzufassen.

Es gibt viele Beweise für die erhöhte Stoffwechsellage und das dadurch bedingte vermehrte Wachstum der malignen Zelle. So fand CASPERSSON (10, 11) die Ribonukleotide in Tumoren bedeutend vermehrt, ferner konnte er eine Vergrösserung des Nukleolus als Ausdruck der vermehrten Proteinsynthese feststellen. Ebenso fand MARSHAK (37), dass Kerne von Tumoren mehr an radioaktiv markiertem Phosphat aufnehmen als normale Zellen. SAUKKONEN (44) fand in Tumoren eine Vermehrung der energiereichen Phosphate.

ALBERT, JOHNSON und COHAN (1) schliesslich untersuchten den Phosphorstoffwechsel in ruhenden Brustdrüsen, sodann in Brustdrüsen während der Schwangerschaft und in Brustdrüsencarcinomen bei Mäusen. Sie fanden, dass die Konzentration von P_{32} in der DNS Fraktion der Carcinome 3-fach erhöht war, in den durch die Schwangerschaft stimulierten Brustdrüsen war sie 2-fach gegenüber den ruhenden Drüsen erhöht.

Nachdem, was bisher gesagt wurde, bleibt noch eine wesentliche Frage offen, nämlich ob die Stoffwechselaktivität der Tumorzelle höher ist als die der embryonalen. LETTERER (35) bezeichnet das Geschwulstgewebe als jugendliches, dem embryonalen nahestehendes noch unausgereiftes, aber deshalb auch mit grösseren Wachstumstendenzen ausgestattetes Gewebe.

Wir halten auf Grund unserer Versuche die Intensität der Stoffwechselprozesse und des Wachstums bei der Tumorzelle für höher als bei der embryonalen. Die Tatsache, dass der Stoffwechsel des Walker-Carcinoms durch Nabelschnurserum um etwa 160 % gesteigert wurde, während er bei den embryonalen Zellen nur bis etwa 60 % vermehrt wurde, spricht eindeutig für ein höheres Wachstums- und Stoffwechselpotential der Carcinomzelle. Den Befund, dass der Betrag der Stoffwechselsteigerung durch Menschenserum bei der Tumorzelle gleichermassen wie bei der embryonalen Zelle um etwa 60 % liegt, können wir nicht erklären.

In der Problematik hatten wir darauf hingewiesen, dass die Stoffwechselvorgänge der Zelle teils von Faktoren beeinflusst werden, die innerhalb der Zelle liegen, teils von Faktoren, die von aussen an die Zelle gelangen. Als wesentlich für die Steuerung der Stoffwechselvorgänge hatten wir die in der Zelle gelegenen Gene bezeichnet. Als extracellulär wirkende Faktoren hatten wir einen grossen Komplex verschiedener wichtiger Stoffe dargelegt, die den Stoffwechsel teils hemmend, teils fördernd beeinflussen. Eine Störung an einer Stelle dieses Systems führt zur Dystrophie bzw. zu Wachstumsstörungen. Die "anabiotische Katabiose" der embryonalen Zelle, die durch eine zu hohe Konzentration eines in der Placenta enthaltenen, wirksamen Prinzips, bedingt war, ist ein experimentell herbeigeführtes Beispiel, das die extracellulären Faktoren betrifft. Es ist gleichzeitig ein Beispiel, dass übermässige Leistungssteigerung als pathogenetisches Prinzip eine Rolle spielen kann. Auch bei der Tumorzelle handelt es sich um eine pathische Steigerung, in welcher der Keim zum Untergang der Krebszelle liegt. In diesem Falle werden die gesteigerten Stoffwechselabläufe von inner-cellulären Faktoren bestimmt.

- 1) Explantate nehmen aus halbfestem Nährmedium deutlich radioaktives Phosphat auf. Dies ist als Zeichen zu werten, dass die Zellkultur stoffwechselaktiv ist.
- 2) Es wird sowohl von Fibroblasten, als auch von Milzzellen, Nieren, Lebern, Herzen und Tumoren in der Organkultur Phosphat aufgenommen.
- 3) Frischer Extrakt von Humanplacenten wirkt in hoher Konzentration hemmend auf den Stoffwechsel von Organkulturen, in der Konzentration 1 : 5 (1 Teil Placenta auf 5 Teile steriles, destilliertes Wasser) ist eine Stoffwechselsteigerung nachweisbar. Diese Konzentration ist für die Stoffwechselsteigerung (+ 58 %) optimal, Abweichungen nach oben oder unten führen zur Verminderung des steigenden Effektes. Die Hemmung des Stoffwechsels durch Extrakt in hoher Konzentration wird als Folge einer übermässigen Steigerung des Zellstoffwechsels mit nachfolgender Degeneration gedeutet.
- 4) Nabelschnurserum steigert deutlich die Phosphataufnahme embryonaler Lebern, Nieren und Herzen.
- 5) Auch C₁₄ markiertes Adenin wird durch die Organkultur deutlich aufgenommen. Adenin ist ein Vorläufer der Nukleinsäuren, die bei der Proteinsynthese eine hervorragende Rolle spielen. Es liefert bei der Betrachtung von Wachstumsvorgängen spezifischere Aussagen als die Phosphorsäure, die im Zellstoffwechsel eine allgemeinere Rolle spielt.
- 6) Auch auf die Adeninaufnahme ist durch Nabelschnurserum eine deutliche Steigerung nachzuweisen.
- 7) Nabelschnurserum ist auch im gekochten Zustand wirksam. Ebenso bringt auch Filtration keine Minderung der stoffwechselsteigernden Wirkung. Somit ist im menschlichen Retroplacentarserum ein stoffwechselsteigernder, bis mindestens 100 °C hitzebeständiger, niedermolekularer Faktor vorhanden.
- 8) Die Aufbewahrung des Serums im Kühlschrank führt zu keiner Änderung der Wirkung des stoffwechselsteigernden Faktors. Wird das Serum jedoch bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so verliert es bereits nach einem Tag seine Wirkung, nach 2 Tagen ist ein depressiver Effekt auf die Organkultur festzustellen.
- 9) Nabelschnurserum wirkt auf das Walker-Carcinom und das Yoshida-Sarkom in der Gewebekultur deutlich steigernd. Bei vergleichenden Untersuchungen mit embryonalen Zellen stellt man fest, dass der Betrag der Stoffwechselsteigerung bei den Tumoren um etwa das doppelte höher liegt, als bei den embryonalen Organen.

- 10) Auch menschliches Blutserum zeigt eine stoffwechselsteigernde Wirkung auf Organkulturen von Lebern und Tumoren. Die Wirkung ist jedoch nicht so ausgeprägt wie beim Nabelschnurserum.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ALBERT, S., JOHNSON, R. M. and COHAN, M. S.:
Cancer Research 11, 772 (1951)
- 2) BIER, A.:
Deutsche Med. Wochenschrift 43, 834 (1917)
- 3) BRACHET, J.:
Chemical Embryologie, New York 1950
- 4) BROWN, M. B., KAPLAN, H. S., WEYMOUTH, P. D. and PAULL, J.:
Science 117, 693 (1953)
- 5) BRUES, A. M.:
Argonne Nat. Lab. ANL 4625, 1951
- 6) BRUES, A. M., TRACY, M. M., COHN, W. E.:
J. of Biol. Chem. 155, 619 (1944)
- 7) BUTENANDT, A.:
Probleme der Biologie im Lichte chemischer Forschung.
Ber. Deutsch.-Chem. Gesellschaft Jahrg. 75, 183
(1942)
- 8) BÜNGELER, W.:
F.Z. f. Pathol. 39, 426 (1930)
- 9) BÜNGELER, W.:
Verhandl. der deutschen pathol. Gesellschaft 25. Ta-
gung 125 (1930) Berlin
- 10) CASPERSSON, T.:
Naturwiss. 29, 33-43 (1941)
- 11) CASPERSSON, T.:
Cell Growth and Cell Funktion, New York 1950
- 12) CARREL, A.:
J. of exper. Med. 36 (1922); 16 (1912)
- 13) CARREL, A. and BURROWS, M.:
C.r. Soc. Biol. Paris 69 (1910)
- 14) COLE, L. J. and ELLIS, M. E.:
Radiation Research 1, 345 (1954)
- 15) COLE, L. J. and ELLIS, M. E.:
Amer. J. Physiol. 173, 487 (1953)
- 16) COLE, L. J., FISCHLER, M. C. and BOND, V. P.:
Proc. nat. acad. Sci. 39, 749 (1953)
- 17) CORNMAN, J.:
Science 113, 37 (1951)
- 18) FELIX, K.:
Münchn. Med. Wochenschr. 7, 237 (1957)
- 19) FELL, H. B.:
J. Roy. Micr. Soc. 60, 95 (1940)
- 20) FISCHER, A., ASTRUP, T., EHRENSVARD, G. and OEHLenschLAGER, V.:
Proc. Soc. exper. Biol. and Med. 67, 1, 40 (1948)

- 21) FRIEDRICH-FRESKA, H.: Naturwiss. 28, 376 (1940)
- 22) FRIEDRICH-FRESKA, H.: Fiat Review 21, 44 (1948)
- 23) v. GAZA, W.: Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie Bd. 14 I 1926
- 24) GLINOS, A.D. and G.O. GEY: Cancer Research 12, 265 (1952)
- 25) GOETSCH, W.: Experientia 3 (1947)
- 26) GRABER, H.: Virchows Arch. path. Anat. 303, 557 (1954)
- 27) HABERLAND, G.: Biol. Zb. 42, 145 (1922)
- 28) HAAS, J.: Physiologie der Zelle, Berlin 1955
- 29) HARRISON, R.G.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 4 (1907)
- 30) HENSCHEN, C.: Schweiz. med. Wschr. 1239 (1929)
- 31) HENSCHEN, C.: Schweiz. med. Wschr. 77 (1947)
- 32) JACQUEZ, J. A. and BARRY, E.: J. of Gen. Physiol. 34, 765 (1951)
- 33) KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie, Stuttgart 1961
- 34) KREBS, H. A.: Naturwissenschaftl. Rdschr. 12, 485 (1956)
- 35) LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie, Tübingen 1959, S.125, 174, 434, 600
- 36) LETTRÉ, H.: Z. Krebsforsch. 58, 621 (1952)
- 37) MARSHAK, A.: J. Gen. Physiol. 25, 275 (1941)
- 38) MENKIN, V.: Biochemical mechanisms in Inflammation, Springfield 1956
- 39) NEUMANN, K.H.: Grundriss der Gefriertrocknung, Göttingen 1952
- 40) PISCHINGER, A.: Medizinische 767 (1953)
- 41) PISCHINGER, A.: Wien. med. Wschr. 952 (1955)
- 42) PULVER, R., EXER, B. und HERRMANN, B.: Schweiz. med. Wschr. 1080 - 1085 (1956)
- 43) RIETSCHEL, H.G.: Problematik und Klinik der Zellulärtherapie, München 1957
- 44) SAUKKONEN, J.: Diss. Helsinki 1956

- 45) SELYE, H.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 76, 510 (1951)
- 46) TEIR, H.: Pathophysiological investigations. Commentationes Biologicae XIII, 1 (1951)
- 47) TEIR, H.: Growth 16, 85 (1952)
- 48) TEIR, H. and RAVANTI, K.:
Exper. Cell Research 5, 500 (1953)
- 49) VIRCHOW, R. zit. DIEPGEN, P.:
Geschichte der Medizin, Bd. I, S. 115 Berlin 1949
- 50) WARBURG, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin 1926
- 51) WRBA, H. und KAGEYAMA, R.:
Klinische Wschr. 38, 1005 (1960)
- 52) WRBA, H. und KALB, H.:
Naturwissenschaften 47, 85/86 (1960)
- 53) WRBA, H. und KALB, H.:
Naturwissenschaften 46, 405 (1959)
- 54) WRBA, H. und KALB, H.:
Zeitschr. f. Zellforsch. 53, 108 (1960)
- 55) WRBA, H., RANZ, H. und RIPOLL-GOMEZ, M.:
Naturwissenschaften 47, 306 (1960)
- 56) WRBA, H., RIPOLL-GOMEZ, M. und RANZ, H.:
Naturwissenschaften 47, 182 (1960)
- 57) ZAMECNIK, P. C., LOTFIELD, R. B., STEPHENSON, M. L. und STEELE, I. M.:
Cancer Research 11, 592 (1951)

Es sei mir am Schluss meiner Arbeit gestattet meinen ganz besonderen Dank Herrn Professor Dr. med. W. BÜNGELER für die Beratung bei der Wahl meines Themas und für die Förderung an seinem Institut auszusprechen.

Weiterhin danke ich insbesondere Herrn Priv. Doz. Dr. med. H. WRBA dafür, dass er mich bei meiner Arbeit jederzeit mit Rat und Tat unterstützte.

LEBENS LAUF

Als Sohn des Lungenfacharztes Dr. med. Adolf Geipel und seiner Ehefrau Maria, geb. Baumgartl, bin ich am 4.10.1934 in Hof/Saale geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule trat ich in das Jean-Paul-Gymnasium in Hof ein, wo ich im Sommer 1953 das Reifezeugnis erwarb. Mein medizinisches Studium begann ich im Wintersemester 1953/54 an der Universität München. Dort bestand ich nach 5 Semestern die ärztliche Vorprüfung. Das erste klinische Semester studierte ich noch in München, ging dann aber für ein Jahr an die Universität in Hamburg. Dann kehrte ich an die Universität München zurück und bestand hier, nach 11 Semestern, das medizinische Staatsexamen am 4. Juni 1959. Am 1. August 1959 trat ich als Medizinalassistent in das Pathologische Institut der Universität München ein, wo ich 10 Monate blieb. Zu dieser Zeit begann ich mich mit der Bearbeitung meines Promotionsthemas zu beschäftigen. Danach war ich 4 Monate als Medizinalassistent an der II. Universitäts-Frauenklinik zu München tätig. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent an der II. Medizinischen Klinik der Universität München beschäftigt, wo ich am 1. Oktober 1960 eingetreten bin.

München, im Juni 1961



